

MÉTODO PARA OBTENER UNA PLANTA DE TRIGO CON PROPIEDADES DE RENDIMIENTO MEJORADAS Y NUEVO TIPO DE TRIGO OBTENIDO DE DICHO MÉTODO.

CAMPO TÉCNICO DE LA INVENCIÓN

La presente invención provee un método para obtener una planta de trigo con propiedades de rendimiento mejoradas, alto nivel de productividad en grano y alto nivel de proteína, y con cualidades industriales similares a los trigos duros de mejor calidad por medio de mutagénesis. La presente invención también se refiere a la nueva planta de trigo designado con el nombre común de Megatrido con cualidades mejoradas como un alto nivel de productividad en grano.

Más específicamente esta invención se encuentra en el campo del mejoramiento de trigo, en especial de *Triticum aestivum L.*, y en la creación de variabilidad genética para la obtención de un nuevo tipo de trigo con cualidades especiales.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

El trigo es una de las plantas cultivadas más importantes del mundo y su mejoramiento a fin de obtener mejores progenies ha sido practicado en forma empírica desde tiempos antiguos y en forma científica desde inicios del siglo XX. A resulta de ello, su adaptabilidad a las más diversas latitudes de siembra y condiciones ecológicas es remarcable (Curtis, 2002).

La importancia fundamental del trigo en la industria de panificación hace que las características de su rendimiento por unidad de superficie, rendimiento de harina, tenor proteico y perfil de las distintas fracciones proteicas del grano, se constituyan en las tres principales características a tener en cuenta para su mejoramiento genético.

Estas características no guardan similitud de objetivos: así, los requisitos de un buen trigo para pan son diferentes de los requisitos de un buen trigo para galletitas. De tal forma, la base de cualquier programa de mejoramiento en la especie trigo se basa en la disponibilidad de una amplia base de germoplasma que sirva para atender esos objetivos diferentes.

Para los próximos 10 años se estima un aumento del 30% de la demanda internacional de trigo. Es por esta razón, que resulta estratégico diversificar y mejorar la calidad de su producción para ser competitivo con los países exportadores y satisfacer la demanda internacional a menores costos.

El rendimiento de trigo es el resultado del número de granos por unidad de superficie y del peso alcanzado por los mismos. Varios autores han destacado la mayor

importancia relativa al componente número de granos por unidad de superficie en la producción de trigo. Sin embargo como se verá a continuación la mayoría de los estudios se orientaron en mejorar la calidad panadera de la harina sobre la base de modificaciones en los niveles de proteína y sus propiedades; mientras que los logros alcanzados en mejorar el nivel de productividad del grano han sido muy bajos hasta el momento.

El trigo cultivado pertenece a dos especies distintas: *Triticum aestivum* L. y *Triticum turgidum* L. ssp. *durum* (Desf.) Husn. La primera de dichas especies comprende a cuatro clases comerciales (hard red winter, hard red spring, soft red winter, y white) y, la segunda, comprende al trigo usado para fideos. La amplia variabilidad permite que el trigo sea la materia prima de una infinidad de productos alimenticios: pan, galletas, galletitas, crackers, etc.

Ya desde el año 1920 se sabía que todas las especies cultivadas del género *Triticum* podían tener tres números de cromosomas: $2n = 14$; $2n = 28$ y $2n = 42$. Esto sugería un número básico de cromosomas de 7 y la consiguiente aparición durante la evolución del género de especies diploides ($2n = 2x = 14$), tetraploides ($2n = 4x = 28$) y hexaploides ($2n = 6x = 42$).

Todos los estudios han confirmado que $1x = 7$ es el número cromosómico básico de la tribu *Triticeae*. Además, cada cromosoma específico o parte de un cromosoma del genoma base está específicamente relacionado con un cromosoma o parte de un cromosoma en otro genoma de la tribu *Triticeae*.

El trigo pan (*Triticum aestivum*) es un aloexaploide con tres genomas, B, A, y D (fórmula genómica acorde con Waines y Barnhart, 1992). Cada genoma deriva de una especie diferente: el genoma B posiblemente proviene de un antecesor de *Aegilops speltoides* Tausch; el genoma A deriva de *Triticum urartu* Tum. ex Gand; y el genoma D proviene de *Aegilops tauschii* Coss (Kihara, 1944; McFadden and Sears, 1946).

El género *Aegilops* ha contribuido con dos tercios del genoma del *Triticum* moderno (Wheat Genetics Resource Center, 2004) y es la fuente del genoma B y D del trigo pan. Estudios mediante la variación de isoenzimas (Jaaska, 1978), ADN nuclear (Dvorak y Zhang, 1990) y organelas contenido ADN (Mori y col., 1988; Wang y col, 1997), soportan fuertemente la idea que el genoma B proviene de especies con el genoma-S de la sección *Sinopsis*, estrechamente relacionada con la especie alógama *Aegilops speltoides*.

Cada uno de los tres genomas (B, A, y D) del trigo pan está compuesto de 7 cromosomas, denominados 1B, 1A, 1D, hasta el 7B, 7A y 7D, respectivamente. De tal forma es posible ubicar a los 21 cromosomas diferentes en tres grupos. Los cromosomas de cada grupo se denominan homólogos (= similares) y se considera que ellos poseen un origen de evolución común (Kimber and Feldman 1987). El término homólogo se refiere al par de cromosomas dentro de un genoma que tienen los alelos para los mismos genes.

Debido a su origen evolutivo relativamente reciente, el trigo cultivado es considerado una especie de menor variabilidad genética que otros cultivos como por ejemplo la cebada o el maíz (Sharp, 2004).

Al igual que con las restantes plantas cultivadas, los métodos aplicados para el mejoramiento de trigo son variados y van desde las clásicas técnicas de mejoramiento convencional descriptos en textos de estudios de amplia difusión (ej., Allan, 1987; Allard, 1960; Heyne, 1987; Simmonds, 1979), pasando por el mejoramiento asistido por marcadores (ej. Reynolds, 2002) y la ingeniería genética (el. Hoisington, 2002).

Sin embargo ninguno de los trabajos realizados reporta métodos para mejorar la producción de grano de trigo por unidad de superficie y con bajos costos de manufacturación.

Desde hace centenares de años se ha recurrido a la búsqueda de mutaciones, con el propósito de conseguir variaciones de trigo que provean harina con la calidad adecuada a su destino final en la industria panadera. Estas mutaciones pueden ser inducidas en forma artificial, siendo este método uno de los más eficientes para la generación de variabilidad genética la cual, combinada con la selección y recombinación de las progenies adecuadas, podría dar lugar a genotipos de interés comercial.

Las mutaciones constituyen alteraciones heredables del material genético y pueden afectar a cromosomas enteros de forma tal que el "nuevo" individuo tiene un número cromosómico diferente al del individuo original, o pueden ser mutaciones puntuales, no visibles citológicamente, las cuales implican cambios en la constitución de nucleótidos del ADN.

Las mutaciones pueden ser inducidas a nivel de la planta entera, o a nivel de cultivos celulares *in vitro*. Los procedimientos utilizados hasta el momento aplican los siguientes tipos de agentes mutagénicos (Montelone, 1998):

- a) Químicos: los diferentes mutágenos químicos se distinguen por su modo de acción, y pueden ser:
 - a. Agentes análogos de Bases: estos compuestos se asemejan químicamente a las bases puricas y pirimídicas del ADN. Ej. Bromouracil, aminopurina.
 - b. Agentes con capacidad de alterar la estructura y apareamiento de bases del ADN. Ej. Ácido nitroso, nitrosoguanidina, metil-metano-sulfonato, etil-metano-sulfonato.
 - c. Agentes intercalantes. Ej. Acridina orange, proflavina, ethidium bromide.
 - d. Agentes que alteran la estructura del ADN. Ej. NAAAF, psoralenos, proxidos.
- b) Físicos/ Radiación: la radiación fue el primer procedimiento mutagénico conocido y el primer reporte data del año 1920. La radiación en sí misma fue descubierta en 1890 y Roentgen descubrió los rayos-X en 1895. Las radiaciones pueden clasificarse en:
 - i. Ionizantes: Son aquellas en las que las partículas que se desplazan son iones. Estas engloban las más perjudiciales para la salud: rayos X, rayo gama, partículas alfa, partículas beta y neutrones, es decir energía nuclear. Este tipo

de radiación es de tal energía que es capaz de producir iones reactivos (átomos o moléculas cargadas) cuando reaccionan con moléculas biológicas (como por ejemplo ADN), de allí su nombre de radiación ionizante.

b. No Ionizantes: Son aquellas en las que no intervienen iones. Un ión se define como un átomo que ha perdido uno o más de sus electrones. Son ejemplos: la radiación ultravioleta, radiación visible, radiación infrarroja, láseres, microondas y radiofrecuencia. Puede incluirse además los ultrasonidos ya que los riesgos producidos por estos son similares a los de las radiaciones no ionizantes. Las radiaciones no ionizantes abarcan el Infrarrojo, espectro visible, y el ultravioleta. Todos estos tipos de radiaciones son de menor energía que las ionizantes, aunque también tienen la capacidad de alterar moléculas biológicas como el ADN.

Los rayos ionizantes son agentes mutagénicos que inducen mayoritariamente reordenamientos importantes en el material genético. Estas radiaciones han sido utilizados en vegetales tales como en el maíz (Fujii, 1978), en la leguminosa *Medicago truncatula* (Sagan et al., 1995), y en la planta modelo *Arabidopsis thaliana* (Redei, 1974).

Los tipos de mutaciones observadas son delecciones, translocaciones, inversiones, inserciones y mutaciones puntuales. Estos tipos de mutaciones no son necesariamente exclusivos, por ejemplo, una delección puede ir acompañada de una inserción o de una inversión (Shirley et al., 1992). Sin embargo, el tipo dominante de mutación producida con este tipo de radiación son las delecciones (> 75%).

La búsqueda de alteraciones hereditarias "mayores" tales como la pérdida de partes de cromosomas, de un cromosoma, o de juegos completos de los mismos, no puede considerarse un objetivo lógico a perseguir en todas las especies de plantas cultivadas. Sin embargo, el trigo, presenta una particularidad especial ya que, a causa de la poliploidía, su genoma es considerado de tipo "buffer", en el cual es posible tanto la introducción de partes de cromosomas, cromosomas enteros o grandes grupos de ligamiento (caso triticale por ejemplo), así como la delección de partes de cromosomas o de cromosomas enteros. Ha sido perfectamente demostrado desde hace mucho tiempo, que el genoma de trigo soporta una alta inestabilidad cariotípica que no necesariamente debe concluir en un fenómeno de especiación, aunque lo mismo pueda ser posible.

Ernest Robert Sears, desarrolló a inicios de la década de 1950 un método para obtener monosómicos en trigo (es decir $2n-1 = 41$ cromosomas) y a partir de los mismos obtener los nulisómicos ($2n-2 = 40$ cromosomas). Sin embargo, la tasa de obtención de nulisómicos fue bajísima.(0,03) No obstante esta dificultad, Sears fue capaz de obtener los nulisómicos para cada uno de los 7 cromosomas básicos del trigo pan y describir sus características morfológicas generales. Cruzamientos amplios dirigidos y posterior selección entre especies emparentadas o progenitoras de trigo pan dentro de la tribu *Triticeae* se han

realizado y estudiado en los últimos 100 años (ver revisión de Mujeeb-Kazi and Rajaram, 2002). El primero de estos híbridos fue entre trigo y centeno logrado por Wilson en 1876. Posteriormente, y trabajando en el mismo tipo de cruzamiento, Rimpau en 1891 describió 12 plantas de "Triticale".

Sin embargo, en el caso particular de las modificaciones del número cromosómico de trigo, los nulisómicos descriptos por Sears y los casos reportados por Mujeeb-Kazi and Rajaram, más allá de su valor como herramienta para estudios citogenéticas, no han tenido aplicación comercial alguna fundamentalmente por sus deficiencias agronómicas y escaso rendimiento.

Más tarde, Farrer en 1904 logró híbridos entre trigo y cebada. Desde 1930 en adelante, se realizaron numerosos experimentos de cruzamientos interspecíficos e intergenéricos en la tribu *Triticeae* con el objetivo de transferir perennidad al trigo, fundamentalmente entre *Triticum* y *Aegilops*. De las aproximadamente 325 especies de la tribu *Triticeae*, alrededor de 250 son perennes y 75 son anuales, encontrándose entre estas últimas al trigo pan, trigo duro, triticale, cebada y centeno (Dewey, 1984). Muy pocos experimentos de cruzamientos amplios entre especies perennes y anuales han tenido éxito debido a la alta complejidad para hacer esto y al fracaso de la técnica del cultivo de embriones. Las especies perennes más utilizadas en estos experimentos pertenecieron al grupo *Thinopyrum* y, en general, se utilizaron especies forrajeras con características valiosas desde el punto de vista de su resistencia a enfermedades.

Por lo tanto existe todavía una necesidad en proveer un método para obtener plantas de trigo que posean una alta producción en grano pero con una calidad agronómica similar a los mejores trigos comercialmente disponibles. Existe también una necesidad de obtener nuevas plantas de trigo por un procedimiento con tiempos de procesamiento y costos de energía sustancialmente disminuidos.

RESUMEN DE LA INVENCIÓN

Es por lo tanto un primer objeto de la presente invención proveer un método para obtener una planta de trigo modificada con propiedades de rendimiento mejoradas, alto nivel de productividad en grano, alto nivel de proteína y cualidades industriales similares a los trigos duros de mejor calidad.

Más específicamente es un objeto principal de la presente invención proveer un método para obtener variabilidad genética en trigo, especialmente en *Triticum aestivum* L., con cualidades de producción mejoradas alto nivel de productividad en grano, alto nivel de proteína pero con cualidades industriales similares a los trigos duros de mejor calidad.

Otro objeto de la invención es obtener una planta de trigo modificada con propiedades de rendimiento mejoradas, alto nivel de productividad en grano, alto nivel de

proteína y cualidades industriales similares a los trigos duros de mejor calidad por un método sencillo y económico, con tiempos de procesamiento y costos de energía sustancialmente disminuidos.

Otro objeto de la invención es obtener una planta de trigo modificada que provean granos de trigo con un peso de 1000 granos superior a los 55 g, preferentemente superior a 70g.

Más preferentemente, otro objeto de la invención es obtener una planta de trigo que presente de raíz en corona, alta capacidad de producción de vástagos fértiles, capacidad de rebrote que le confiere un hábito perenne y un alto nivel de productividad en grano.

Es otro objeto de la presente invención proveer un método para obtener mayor producción en grano de trigo que sea económico con tiempos de procesamiento y costos de energía sustancialmente disminuidos por medio de la obtención de una variabilidad genética en una planta de trigo.

Es también otro objeto de la presente invención un método para generar variabilidad genética en una planta de trigo que provea un trigo con cualidades mejoradas.

La presente invención también provee una planta o partes de planta de trigo modificada que presenta raíz en corona, alta capacidad de producción de vástagos fértiles, capacidad de rebrote y hábito perenne que confieren alto nivel de productividad en grano, alto nivel de proteína y cualidades industriales similares a los trigos duros de mejor calidad.

Sorpresivamente los autores de la presente invención han descubierto que es posible mejorar la producción de grano de trigo obtenido por unidad de superficie generando una variabilidad genética en el trigo, preferentemente en *Triticum aestivum*, por un método sencillo que comprende la aplicación permanente a lo largo de todo el desarrollo de la inflorescencia de una alta concentración de luz solar sin filtrado de espectro a una construcción de planta F1 obtenida por cruzamiento de dos padres genéticamente distantes y de cualidades industriales opuestas; seguido de la germinación de las semillas resultantes y el análisis de la descendencia para la búsqueda de variantes estabilizadas.

Mediante este proceso, los autores de la presente invención han conseguido generar variabilidad genética en trigo, designado con el nombre común de Megatrigo. La variabilidad genética se manifiesta en la presencia de raíz en corona, alta capacidad de producción de vástagos fértiles, capacidad de rebrote, hábito perenne, alto nivel de productividad en grano, alto nivel de proteína y cualidades industriales similares a los trigos duros de mejor calidad. Más especialmente, las características ventajosas y sorprendentes de la nueva planta de trigo Megatrigo obtenida por el proceso de la presente invención son la presencia de raíz en corona, alta capacidad de producción de vástagos fértiles, capacidad de rebrote y hábito perenne que sin sujetarse a ninguna teoría en particular le confieren un alto nivel de productividad en grano y alto nivel de proteína.

Sorpresaivamente la planta de trigo obtenida por el método de la presente invención provee un rendimiento notablemente mejorado con respecto a otras variedades comercialmente disponibles en el mercado. Así pues, una de las características de la planta de trigo obtenida por el proceso de la presente invención que contribuye al mayor rendimiento es que los granos de trigo superan notablemente en peso a los granos de trigo comercialmente disponibles. El peso promedio de cada grano de trigo obtenido por el proceso de la presente invención es aproximadamente entre 50 y 80 gramos, más preferentemente 70 gramos; mientras que los máximos vistos en trigos comercialmente disponibles es de 45-50 gramos. Además, la planta de trigo obtenida por el proceso de la presente invención posee un promedio de aproximadamente 20 espiguillas por espiga comparado con 14 espiguillas por espiga en los trigos comercialmente disponibles. Cada una de estas espiguillas rinde aproximadamente entre 3 y 4 granos de trigo por espiguilla. Por lo tanto el mayor peso de los granos de trigo obtenidos por el proceso de la presente invención sumado a la mayor cantidad de granos producido por planta provee un rendimiento notablemente mejorado en la producción de trigo. Como se demostrará en detalle según el Ensayo Comparativo de Rendimiento mediante la utilización del software Infostat (Infostat, 2004) es posible obtener una producción en grano de trigo que supera en un 60% la producción los trigos convencionales.

Otra de las ventajas que presenta la nueva planta de trigo obtenida por el proceso de la presente invención es la capacidad de rebrote a partir de una zona de reserva. Las plantas adultas así obtenidas, con numerosos vástagos originan una región basal conformada por numerosos tallos muy aproximados y gran cantidad de raíces adventicias producidas en nudos por encima del nivel del suelo. Esta situación de proximidad origina una suerte de soldadura de tallos en la parte basal y le confiere una situación de zona de reserva. Como consecuencia de lo expresado, se ha podido determinar el desarrollo de cerca de 150 vástagos por planta, mientras que en las densidades habituales se contabilizaron 15-20 vástagos. Es así que, debido a esa formación, las nuevas plantas de trigo obtenidas por el método de la presente invención manifiestan un hábito de vida perenne, cumpliendo con todas las fases vegetativas y reproductivas conocidas. Esta propiedad permite que, una vez cosechada la planta se pueda volver a obtener nuevas plantas y consecuentemente obtener una mayor producción de granos sin necesidad de volver a sembrar semillas y sin necesidad de emplear mayor mano de obra.

Por lo tanto los costos de tiempo y energía para obtener un mayor rendimiento de granos de trigo se ven sustancialmente reducidos con el proceso de la presente invención.

Además, el procedimiento de la presente invención provee granos de trigo que poseen valores en los parámetros de la calidad panadera que los sitúa en la escala superior de calidad para los citados estándares de calidad de Australia, Canadá y los Estados Unidos Así pues los granos de trigo obtenidos por el proceso de la presente invención poseen un patrón

de gluteninas correspondientes a variedades con muy buena calidad panadera; una fuerza de gluten comparable a las variedades comerciales de trigo de buena aptitud panadera y también un contenido de proteína de aproximadamente 40% superior al de los granos de trigo comercialmente disponibles.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

La presente invención se relaciona con un nuevo método de mejoramiento vegetal aplicado a trigo pan, con capacidad para generar variabilidad genética en dicha especie. A partir del análisis de la descendencia, se logró identificar una cierta cantidad de plantas de características fenotípicas novedosas, caracterizadas por tener presencia de raíz en corona, alta capacidad de producción de vástagos fértiles, hojas largas y anchas en algunos casos finamente aserradas, hojas con nervadura central, capacidad de rebrote, hábito perenne, alto nivel de productividad en grano, alto nivel de proteína y que conservan cualidades industriales similares a los trigos duros de mejor calidad.

La presente invención también incluye la planta de trigo obtenida por el proceso de la invención. Como se utiliza aquí, el término planta incluye pero no se limita a planta entera, células de plantas, protoplastos de plantas, cultivos de tejidos de células de plantas, callos de plantas, poblaciones de plantas; y partes de plantas que están intactas en la planta o partes de plantas como embriones, polen, óvulos, flores, grano, hojas, tallo, raíz, anteras.

La presente invención también incluye las semillas producidas por las plantas de trigo. Ventajosamente, la línea de trigo Megatrido puede ser utilizada y cruzada con otras líneas diferentes para obtener plantas con características superiores. Todas las plantas producidas utilizando la línea de trigo Megatrido como progenitor están también dentro del alcance de la presente invención.

Como se utiliza en la presente invención, el término planta de trigo se refiere a una planta que es miembro del género *Triticum*. La plantas de trigo de la presente invención pueden ser miembros del género *Triticum* que incluye pero no limita a *T.aestivum*, *T. turgidum*, *T. timopheevii*, *T.monococcum*, *T.zhukovskyi* y *T urartu* e híbridos de los mismos. Ejemplos de *T.aestivum* subespecies que se incluyen dentro de la invención son *aestivum*; *compactum*; *macha*; *vavilovi*; *spelta* y *sphaerococcum*. Ejemplos de *T. turgidum* subespecies incluidas dentro de la presente invención son *turgidum*, *carthlicum*, *dicoccum*, *durum*, *paleocolchicum*, *polonicum*, *turanicum* y *dicoccoides*. Ejemplos de *T.monococcum* subespecies incluidas dentro de la presente invención son *aremonococcum* y *aegilopoides*. Preferentemente en *Triticum aestivum* L.

El método para mejorar la producción de grano de trigo obtenido por unidad de superficie de la presente invención comprende los pasos de:

- a. La construcción de una planta de trigo F1 por medio del cruzamiento de dos padres genéticamente distantes y de cualidades industriales opuestas;
- b. La aplicación permanente a lo largo de todo el desarrollo de la inflorescencia de dicha planta de una alta concentración de luz solar sin filtrado de espectro;
- c. la germinación de las semillas resultantes y el análisis de la descendencia para la búsqueda de variantes estabilizadas.

No se conoce de información respecto a la inducción de mutaciones en vegetales superiores por medio de la luz solar directa, es decir espectro visible más espectro no-visible (UV e infrarrojo).

La irradiación solar comprende una parte del espectro electromagnético entre 300 y 1500 nm. Aquí englobamos el espectro visible y el espectro luminoso no visible. El espectro visible, llamado también ventana óptica, comprende aproximadamente desde los 380 nm (violeta), hasta los 770 nm (rojo). Por encima de los 770 nm tenemos las radiaciones infrarrojas y por debajo de los 380 nm tenemos las ultravioletas.

La radiación infrarroja fue descubierta por el astrónomo Willian Herschel (1738-1822) en 1800, al medir la alta temperatura mas allá de la zona roja del espectro visible. La banda infrarroja se divide en tres secciones próximas (a lo visible. 770 - 2500 nm), intermedia (2500 - 50000 nm) y lejana (50000 - 1mm). Toda molécula que tenga una temperatura superior al cero absoluto (-273º K) emite rayos infrarrojos y estos serán mayores entre mas temperatura tenga el objeto.

Las fuentes de generación de radiación infrarroja son la luz solar, cuerpos incandescentes y superficies muy calientes, llamas, lámparas incandescentes, fluorescentes, etc.

Los efectos biológicos de la radiación infrarroja son leves ya que, debido a su bajo nivel energético, no reacciona con la materia viva produciendo sólo efectos de tipo térmico. Las lesiones que pueden producir aparecen en la piel y los ojos. La exposición a radiación puede causar quemaduras y aumentar la pigmentación de la piel. Los ojos están dotados de mecanismos que los protegen, pero pueden producir eritemas, lesiones corneales y quemaduras.

El espectro visible para el ojo humano de la irradiación solar fue descompuesto por Isaac Newton en sus componentes mediante la utilización de un prisma. La luz blanca esta constituida por la combinación de ondas que tienen energías semejantes y es debido a que ninguna de estas predomine sobre las otras. La radiación visible va desde los 380 nm hasta 770 nm. Las frecuencias mas bajas de la luz visible (longitud de onda larga) se perciben como rojas y las de más alta frecuencia (longitud corta) aparecen violetas.

Por mucho tiempo se consideró que el espectro visible de la luz no tenía efecto mutagénico alguno. Sin embargo, se ha podido demostrar que aún esta franja del espectro

posee actividad mutagénica en microorganismos (Kubitschek, 1967; McGinty, and Fowler, 1982; Kielbassa et al, 1997; Voskanyan, 1990; Xiang Yang, 1990; Sinha et al, 2002).

La radiación ultravioleta (UV), está localizada entre los rayos X y el espectro de luz visible. La radiación UV fue descubierta por Johann Wilhelm Ritter en 1801 al lograr oscurecer sales de plata exponiéndolas mas allá del extremo violeta de la luz visible. Constituyen una parte importante de la luz que envía el Sol a la Tierra. Estos rayos tienen tal energía que producen ionización de átomos y como consecuencia se forma la ionosfera en la tierra. Este fuerte efecto químico los hace tóxicos para la vida llevando a producir mutaciones cancerígenas en la piel. El Ozono es la sustancia encargada en nuestra atmósfera de absorber parte de los rayos ultravioleta e impedir que lleguen a nosotros.

Las fuentes de generación de radiación UV son la luz solar, lámparas germicidas, lámparas de fototerapia, lámparas solares UV-A, arcos de soldadura y corte, fotocopiadoras, etc.

Los efectos biológicos de la radiación UV están bien documentados y ésta puede reaccionar con las bases de ADN y aminoácidos aromáticos de las proteínas siendo por lo tanto un importante agente mutagénico y hasta letal en microorganismos (Montelone, 1998; Voskanyan, 1999). La radiación UV se clasifica normalmente en base a su longitud de onda y puede ser:

- a) UV-C (180-290 nm). Es la más energética y letal y no se encuentra en la luz solar ya que es absorbida por la capa de ozono. Sin embargo, la depleción de la capa de ozono en ciertas regiones del planeta puede producir que este tipo de radiación alcance la superficie;
- b) UV-B (290-320 nm). Es la fracción de la luz solar con mayor capacidad letal y/o mutagénica;
- c) UV-A (320 nm – visible). Es el denominado UL “cercano” y puede tener algunos efectos deletéreos, primariamente por provocar la aparición de radicales de oxígeno y, en segundo lugar, por producir dímeros de pirimidinas.

Se conoce que la radiación ultravioleta puede incrementarse en algunas circunstancias especiales. Por ejemplo, se sabe que cuando se desarrollan nubes de tipo cúmulos, las mismas pueden actuar como espejos y difusores e incrementar las intensidades UV y por consiguiente el riesgo solar. Una capa de nubes no muy gruesa puede bloquear la radiación visible (las sombras sobre el piso se tornan borrosas) e infrarroja (disminuye la sensación de calor) pero no a la radiación ultravioleta que seguirá llegando a la superficie y por lo tanto puede provocar quemaduras. Algunas nubes tenues pueden tener el efecto de lupa y algunas nubes blancas pueden actuar como espejo reflejando la radiación y aumentando la radiación ultravioleta que llega a la superficie. A igual latitud la radiación que recibe la superficie de la tierra estará determinada por el ozono atmosférico total, la nubosidad, los contaminantes atmosféricos, la altura del terreno sobre la que nos encontramos y el tipo del

mismo. La nieve, la arena, el concreto actúan como espejos y reflejan mucho la radicación ultravioleta, aumentando así, localmente, la cantidad que recibimos. La altura también es un factor: cuanto más alto, mayor es también la radiación UV (American Optometric Association, 2004; Environmental Protection Agency, 2004).

Sin embargo, la irradiación de un material biológico, en este caso una planta de trigo, puede realizarse por incidencia directa o por reflejos de diferente características que se producen de manera natural y continua o bien de manera artificial mediante irradiaciones con diferentes fuentes de energía o modificando la trayectoria de la radiación natural incidente. El experimentador puede intentar generar cambios de esta manera y seleccionar los individuos que supone, han sido favorecidos o que registren cambios favorables. De esta forma la proporción de transformaciones favorables es muy baja y fortuita.

En el caso de la presente solicitud el experimentador con toda intención actuó modificando la radiación incidente de baja energía y, probablemente, la calidad de la misma por medios no convencionales (reflejando con espejos) Esta modificación de la radiación incidente aplicada desde antes del inicio de las etapas reproductivas hasta su final puede inducir modificaciones heredables.

El primer paso de la invención realizado en el año 1997, consistió en construir una F1 que contuviera un genotipo capaz de generar en forma natural una amplia variabilidad génica en su descendencia.

Para generar esta máxima variabilidad previa al tratamiento mutagénico se seleccionaron como líneas progenitoras para obtener la F1 (S0) a dos variedades de trigo pertenecientes al Criadero Thomas de la República Argentina de cualidades industriales y ciclos divergentes:

- a) como madre se utilizó a la línea inédita de *Triticum aestivum* L. de 2n= 42 de denominación interna "Thomas 796", cuyo origen puede trazarse a partir de una población segregante de origen CIMMYT (Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo), seleccionada en Obregón – Sonora – México en F2, de ciclo precoz, porte alto y calidad de tipo "blando";
- b) como padre se utilizó a la variedad de *Triticum aestivum* L. de 2n= 42, de denominación "Thomas Aconcagua" de excelente calidad industrial con alta estabilidad, de ciclo largo y porte bajo, cuyo origen puede trazarse en el siguiente esquema:

12

MONCHO S (S) x ALONDRA S (S)



x THORNBIRD (S)



PARULA (S) x BOBWHITE (S)



x BOBWHITE (S)



x PARULA (S)



x THOMAS ACONCAGUA (W)

En 1998, se sembró la F1 (S0) y a partir del momento de la espigazón y hasta la floración se sometió a 100 plantas a un proceso mutagénico de alta concentración de rayos solares sin ningún tipo de filtrado de longitud de onda y con el objeto de provocar alteraciones profundas en el ADN de las células germinales:

- a) Las 100 plantas de trigo fueron sembradas en una sola parcela de 1,20 metros de ancho por 2 metros de largo en 7 surcos separados a 0,20 metros. La dirección de los surcos fue Este – Oeste;
- b) Se prepararon 6 superficies espejadas de 1,00 metros de largo por 0,50 metros de alto cada una. Cada una de estas superficies espejadas estaba formada desde atrás hacia delante por un cuadriculado de hierro sosteniendo un espejo cuya parte posterior fue tratada con pintura sintética color negro mate (ver Figura No. 1)
- c) Las 6 superficies espejadas se montaron sobre 6 soportes de manera tal que los espejos estuviesen apuntando por su centro hacia una varilla ubicada en forma equidistante en medio de la parcela con las plantas (ver Figura No. 2);
- d) Tres de los espejos se ubicaron en dirección hacia el oeste y tres de los espejos se ubicaron en dirección hacia el este. La distancia de los espejos a la parcela de trigo fue de 1,50 metros (ver Figura No. 3);
- e) La dirección de los espejos se varió de acuerdo a la altura de las plantas.

En el año 1999 se sembraron las 866 semillas cosechadas F2 (S1 o M1), germinando únicamente dos de ellas, dando lugar a dos plantas las cuales produjeron 182

semillas que fueron cosechadas en conjunto. Fue notorio que el tamaño de algunas de estas semillas superaba el normal para la especie *Triticum aestivum* ya que pesaban 12,8 gramos y medían 9 mm de largo por 4 mm de ancho.

En el año 2000, se sembraron las 182 semillas cosechadas F3 (S2 o M2) notándose la aparición de plantas de diferentes formas, alturas, ciclos y comportamiento sanitario; practicándose una selección basada únicamente en aspectos fenotípicos favorables. Se seleccionaron 17 plantas que se cosecharon en forma individual.

En el año 2001, se sembraron 17 parcelas individuales con las semillas cosechadas F4 (S3 o M3) de las 17 plantas seleccionadas. El material mostró nuevamente una gran segregación para forma de planta, altura, ciclo y comportamiento sanitario, practicándose una nueva selección basada en aspectos fenotípicos favorables. Paralelamente, plantas de cada una de las 17 parcelas se utilizaron para realizar cruzamientos con variedades comerciales de trigo pan *Triticum aestivum* L. para conformar 17 grupos de cruzamiento.

En el año 2002, se sembraron:

- a) Las semillas F1 de los 17 grupos de cruzamiento, notándose que 16 de ellos germinaron y un solo grupo no germinó por ser inviable el cruzamiento realizado, y;
- b) 825 parcelas totales provenientes de las semillas cosechadas F5 (S4 o M4) de las plantas seleccionadas de las 17 parcelas del año anterior.

A partir de este momento, nos referiremos únicamente a las plantas de la parcela cuyos cruzamientos F1 con *Triticum aestivum* L no germinaron.

En el año 2003, se sembraron 22 surcos con 100 semillas F5 (S5 o M5) provenientes de las 22 plantas seleccionadas. Todas las plantas siguieron mostrando una elevada segregación para ciclo y altura de planta.

Semillas remanentes de los 22 surcos sembrados fueron llevadas al Departamento de Botánica, perteneciente a la facultad de Agronomía de la Universidad del Centro de la Provincia de Buenos Aires República Argentina a fin de realizar un conteo cromosómico. El estudio realizado permitió comprobar que en ningún caso el número cromosómico era el normal para la especie *Triticum aestivum* L. de $2n= 42$, habiéndose comprobado números cromosómicos de $2n= 32$ a 40. Esto explica el por qué los cruzamientos con *Triticum aestivum* L de $2n= 42$ cromosomas, fueron inviables.

Al correlacionar el conteo cromosómico con las características fenotípicas de los 22 surcos sembrados, fue claro que en los cuatro surcos con plantas de $2n= 40$ cromosomas, las mismas compartían las siguientes características:

- a) Espigas de tamaño mucho más grande que el normal para la especie *Triticum aestivum* L;
- b) Raíz en corona;
- c) Alta capacidad de producción de vástagos fértiles;
- d) Hojas más largas y anchas que lo normal para la especie *Triticum aestivum* L;

- e) Hojas finamente aserradas en algunos casos, y;
- f) Hojas con nervadura central .

Las plantas de los cuatro surcos seleccionados de constitución cromosómica $2n=40$ se cosecharon por espiga individual.

Se realizó un bulk contenido en forma proporcional una parte de las progenies cosechadas de todas las semillas a fin de tener suficiente cantidad para realizar distintos análisis de caracterización. A este bulk se lo denomina semilla MEGATRIGO.

La semilla de MEGATRIGO se utilizó para los siguientes análisis:

1) Descripción morfológica de Megatrigo

La siguiente descripción morfológica de las plantas de Megatrigo fue realizada en el Departamento de Botánica, perteneciente a la facultad de Agronomía de la Universidad del Centro de la Provincia de Buenos Aires República Argentina en el año 2004, con plantas de Megatrigo sembradas el 13 de julio de 2004, con emergencia el 3 de agosto de 2004:

Plantas herbáceas que al germinar presentan coleóptilo de color blanco y con pigmentación antociánica ausente (Figura 4: foto de coleóptilo).

Las plantas presentan anatomía foliar correspondiente a tipo C3 similar a las gramíneas de invierno.

Las plantas adultas varían de 0.78 a 1.60 metros de altura con numerosos vástagos (Figura 5: fotos de vástagos y plantas enteras), que origina una región basal conformada por numerosos tallos muy aproximados (Figura 6: fotos de tallos aproximados), y gran cantidad de raíces adventicias producidas en nudos por encima del nivel del suelo (Figura 7: fotos de raíces). Esta situación de proximidad origina una suerte de soldadura de tallos en la parte basal y le confiere una situación de zona de reserva (Figura 8: otra foto de raíces mostrando zona de reserva).

Como consecuencia de lo expresado, se ha podido determinar, en ejemplares sembrados con baja densidad, el desarrollo de cerca de 150 vástagos por planta, mientras que en las densidades habituales se contabilizaron 15-20 vástagos.

En la disección de plantas adultas se verificó que a los 40 días desde la emergencia, en las condiciones de ensayo, comenzó la formación de una especie de corona basal (Figura 9: otra foto de raíces en donde se observe corona basal). La Figura 10, muestra un estado posterior.

Esta característica es similar a la que se ha descripto para el género *Aegilops*, considerado un ancestro de *Triticum aestivum* (Morrison et al, 2002) En la Figura 11 se muestra un detalle del sistema subsuperficial del material en estudio.

Paralelamente, utilizando plantas adultas, se eliminó todo el material por sobre la superficie del suelo, verificándose a los 10 días desde el corte, la aparición en superficie de nuevas hojas, similar a un rebrote. El detalle puede observarse en la Figura 12.

Es así que, debido a esa formación, todos los ejemplares estudiados manifiesten un hábito de vida perenne, cumpliendo con todas las fases vegetativas y reproductivas conocidas en *Triticum aestivum*, pero al finalizar su ciclo con capacidad de rebotar a partir de una zona de reserva.

Las cañas son plurinodes, con nudos glabros (Figura 13: fotos de cañas y nudos).

La lígula es membranosa de 2 - 2,5 milímetros (Figura 14: fotos de lígulas).

Las aurículas y láminas son de dos tipos:

- aurículas de color verde de 50 milímetros, escasamente pilosas (Figura 15: fotos de aurículas verdes), que se corresponden con láminas planas, glabras, de borde liso, con nervadura central marcada y de 16 hasta 39 centímetros de longitud por 1.5 a 3.0 centímetros de ancho (Figura 16: foto de láminas de borde liso).
- aurículas con pigmentación antociánica, de 50 milímetros, glabras (Figura 17: fotos de aurículas antociánicas), que se corresponden con láminas planas, glabras, de borde aserrado, con nervadura central marcada y de 16 hasta 39 centímetros de longitud por 1.5 a 3.0 centímetros de ancho (Figura 18: foto de láminas de borde aserrado).

Las espiguillas tienen una disposición en cuanto a la inserción de las flores con sus glumelas al eje de la misma en forma de "pino", diferente a las normales espiguillas de *Triticum aestivum* en forma de "mano abierta" (Figura 19: foto de espiguillas). El número de espiguillas dentro de una misma espiga varía desde 16 hasta 34 espiguillas/espiga, teniendo las espiguillas basales no menos de 2 granos, 3 a 4 granos en casi todas y, en algunos casos, 6 granos desarrollados.

Las espigas son erectas de 15 - 18 centímetros de longitud. Por la disposición de sus espiguillas, la espiga no adopta la forma de menor-mayor-menor tamaño, como es el caso de la espiga tradicional de *Triticum aestivum*, sino que se asemeja a una espiga de forma cilíndrica desde la base al extremo superior (Figura 20: foto de espigas donde se note su estructura cilíndrica).

La espigazón fue desuniforme: las primeras plantas espigaron el 30 de octubre y las últimas el 21 de noviembre. Dividido este período en tercios, en el primer tercio de tiempo espigaron el 11.5% de las parcelas, en el segundo tercio espigaron el 55%, y las restantes espigaron en el último tercio.

El color de la vaina de la primera hoja es verde claro con ausencia pubescencia al comienzo de la formación de vástagos (Figura 21: foto de vainas).

El porte vegetativo es variable presentando todos los estados: de 1056 plantas contabilizadas, 21 (2.0%) presentaron porte rastrero; 45 (4,3%) presentaron porte semi-rastrero; 980 (92,8%) presentaron porte semi-erecto, y; 10 (0,9%) presentaron porte erecto (Figura 22, 23, 24 y 25: fotos de los cuatro portes).

Las glumas, parámetro principal del posible tamaño del grano, van desde 10 milímetros hasta los 13 milímetros de longitud (Figura 26: fotos de glumas).

16

Los cariopses son de color rojo en general, con aislados casos de color ambar (Figura 27: cariopses color rojo; Figura 28: cariopses color ambar). El tamaño de los cariopses muestra una gran variabilidad, desde 7.5 x 3.0 x 3.0 milímetros (largo x ancho x espesor), hasta 10.0 x 4.5 x 4.0 milímetros (Figura 29 : tamaños de cariopses).

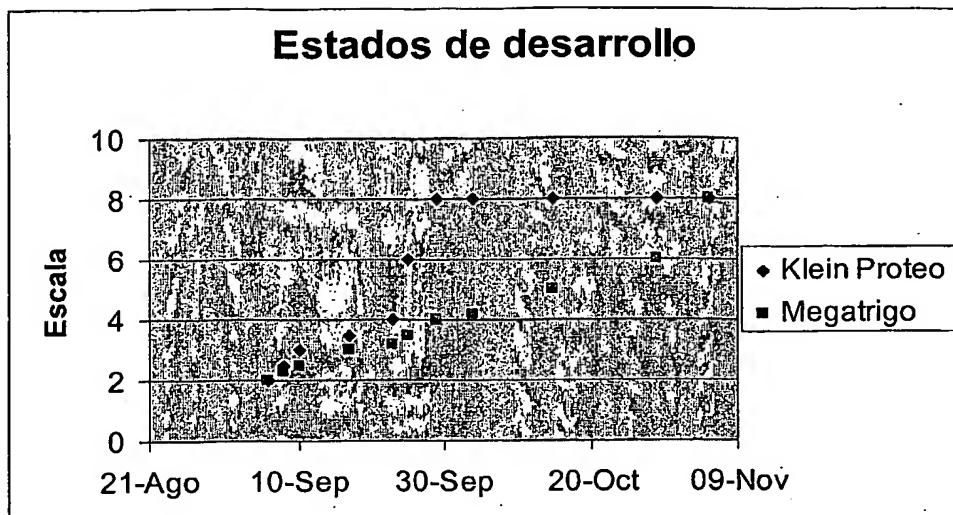
El peso de 1000 granos va desde los 55 gramos hasta los 80 gramos.

El comportamiento a las enfermedades producidas por hongos o bacterias mostró una amplia variabilidad, con tendencia en todos los casos hacia los niveles de mayor resistencia / tolerancia más que hacia la susceptibilidad.

Comparando las plantas de Megatrigo contra una variedad testigo de *Triticum aestivum* de nombre comercial "Klein Proteo", se observa en el cuadro y figura siguientes que ambos alcanzaron en el mismo momento el estado de "doble lomo", es decir, de inicio visible de formación de espiguillas (10 de Septiembre), utilizando la Escala de Gardner (Gardner et al, 1985). Sin embargo, "Klein Proteo" alcanzó el estado de espiguilla terminal (estado 8 de la escala considerada), el 20 de septiembre, en tanto que las plantas de Megatrigo solamente habían alcanzado a formar la mitad de las espiguillas aproximadamente (estado 4 de la escala considerada). Este diferente ritmo de formación de espiguillas puede asociarse al número final de espiguillas / espiga; cuanto más lento el proceso, mayor número final de espiguillas. Así, "Klein Proteo" tuvo en promedio de 5 plantas, 14 espiguillas por espiga y el material en estudio,

20.

	Klein Proteo	Megatrigo
06-Sep	2	2
08-Sep	2,5	2,3
10-Sep	3	2,5
17-Sep	3,5	3
23-Sep	4	3,2
25-Sep	6	3,5
29-Sep	8	4
04-Oct	8	4,2
15-Oct	8	5
29-Oct	8	6
05-Nov	8	8



2) Potencial productivo de Megatrigo

A fin de probar el potencial productivo del MEGATRIGO se realizó un Ensayo Comparativo de Rendimiento mediante el diseño experimental de Bloques Completos al Azar, el cual fue tratado estadísticamente mediante un Análisis de la Varianza y posteriormente por una prueba de comparación múltiple de medias mediante la prueba LSD de Fisher, mediante la utilización del software Infostat (Infostat, 2004).

El Análisis de la Varianza, permite probar hipótesis referidas a los parámetros de posición (esperanza) de dos o más distribuciones. La hipótesis que se somete a prueba generalmente se establece con respecto a las medias de las poblaciones en estudio o de cada uno de los tratamientos evaluados en un experimento:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \dots = \mu_a \text{ con } i=1, \dots, a$$

donde a = número de tratamientos, el cual en el caso bajo análisis lo representa la muestra de cultivares de trigo de ciclo largo más importantes comercializados en Argentina y el tratamiento inédito, en este caso las semillas de MEGATRIGO

Mediante el Análisis de la Varianza se descompone la variabilidad total en la muestra (suma de cuadrados total de las observaciones) en componentes (sumas de cuadrados) asociados cada uno a una fuente de variación reconocida (Nelder, 1994; Searle, 1971, 1987).

Uno de los principales objetivos en la planificación de una experiencia, siguiendo un diseño experimental, es la reducción del error o variabilidad entre unidades experimentales que reciben el mismo tratamiento, con el propósito de incrementar precisión y sensibilidad al momento de la inferencia, por ejemplo aquello relacionado a la comparación de efectos de tratamientos (Snedecor, 1956; Snedecor y Cochran, 1967).

El diseño experimental es una estrategia de combinación de la estructura de tratamientos (factores de interés) con la estructura de unidades experimentales (parcelas, individuos, macetas, etc.), de manera tal que las alteraciones en las respuestas, al menos en algún subgrupo de unidades experimentales, puedan ser atribuidas solamente a la acción de los tratamientos excepto por variaciones aleatorias. Así, es posible contrastar (comparar) medias de tratamientos o combinaciones lineales de medias de tratamientos con el menor "ruido" posible.

El diseño experimental seleccionado para determinar el potencial productivo del MEGATRIGO fue el de Bloques Completos al Azar.

La selección de este diseño parte del supuesto que cuando existe variabilidad entre las unidades experimentales, en este caso distintos cultivares de trigos de ciclo largo y el inédito, los grupos de unidades experimentales homogéneas pueden ser vistos como *bloques* para implementar la estrategia experimental conocida como *Diseño en Bloques*. El principio del bloqueo señala que las unidades experimentales dentro de cada bloque o grupo deben ser parecidas entre sí (homogeneidad dentro de bloque) y que los bloques debieran ser diferentes entre sí (heterogeneidad entre bloques). Es decir, el bloqueo o agrupamiento del material experimental debe ser tal que, las unidades experimentales dentro de un bloque sean tan homogéneas como sea posible y los bloques deben diseñarse para que las diferencias entre unidades experimentales sean explicadas, en mayor proporción, por las diferencias entre bloques. Cuando el diseño ha sido conducido en bloques, el modelo para cada observación debe incluir un término que represente el efecto del bloque al que pertenece la observación (Little y Jackson Hills, 1978; Infostat, 2004).

Así, es posible eliminar de las comparaciones entre unidades que reciben el distinto tratamiento, variaciones debidas a la estructura presente entre parcelas (bloques).

Si cada bloque tiene tantas unidades experimentales como tratamientos y todos los tratamientos son asignados al azar dentro de cada bloque el diseño se denomina *Diseño en Bloques Completos al Azar* (DBCA). Se dice que el diseño es en *bloques completos* porque en cada bloque aparecen todos los tratamientos, y *al azar* porque dentro de cada bloque los tratamientos son asignados a las parcelas en forma aleatoria. Todas las parcelas de un mismo bloque tienen la misma probabilidad de recibir cualquiera de los tratamientos. La variación entre bloques no afecta a las diferencias entre medias, ya que cada tratamiento aparece el mismo número de veces en cada bloque. Este diseño permite mayor precisión que el completamente aleatorizado, cuando su uso está justificado por la estructura de las parcelas.

De acuerdo al software utilizado, el siguiente modelo lineal puede ser postulado para explicar la variación de la respuesta, que en el bloque j recibe el tratamiento i , obtenida en un diseño en bloque con sólo un factor tratamiento (Infostat, 2004):

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \epsilon_{ij} \text{ con } i=1, \dots, a$$

donde μ corresponde a la media general, τ_i el efecto del i -ésimo tratamiento, β_j el efecto del j -ésimo bloque ($j=1, \dots, b$) y ϵ_{ij} es el error aleatorio asociado a la observación Y_{ij} .

Comúnmente los términos de error se asumen normalmente distribuidos con esperanza cero y varianza común σ^2 .

Otro supuesto que acompaña la especificación del modelo para un diseño en bloques se refiere a la aditividad (no interacción) de los efectos de bloques y de tratamientos.

La verificación de las suposiciones realizadas sobre el término de error y la comparación de medias de tratamientos generalmente acompañan este tipo de salida.

Finalmente, cuando los efectos de un factor en el ANAVA son considerados como no nulos, se implementa una prueba de comparaciones múltiples de medias. A partir de las medias maestrales bajo cada una de las distribuciones que se comparan, se comparan las medias de todos los tratamientos. Para analizar las diferencias de "a pares" entre las medias de las distribuciones que se comparan, es posible realizar una gran variedad de *pruebas a posteriori* o pruebas de comparación múltiple, habiéndose seleccionado por su tradición en la comparación de medias en tratamientos entre cultivares a la prueba LSD de Fisher (Hsu, 1996; Hsu y Nelson, 1998).

La prueba LSD, acrónimo de *Least Significant Difference*, compara las diferencias observadas entre cada par de promedios muestrales con el valor crítico correspondiente a la prueba *T* para dos muestras independientes. Cuando se trabaja con datos balanceados, como es el caso del diseño empleado, esta prueba es equivalente a la prueba de la diferencia mínima significativa de Fisher, para toda comparación de medias de efectos principales. La prueba no ajusta el nivel de significación simultáneo, por lo cual la tasa de error por experimento puede ser mayor al nivel nominal, aumentando conforme aumenta el número de tratamientos a evaluar.

El Ensayo Comparativo de Rendimiento se llevó a cabo en la localidad de La Dulce, partido de Necochea, provincia de Buenos Aires, República Argentina, ubicada a 38° 17' Lat. S - 59° 12' LONG. O.

Participaron 15 cultivares, siendo 10 de ellos cultivares testigos de ciclo largo de amplia difusión en Argentina, 4 cultivares experimentales no comerciales, y las semillas de MEGATRIGO.

El listado de cultivares del ensayo fue el siguiente:

20

No Tratamiento	Compañía	Cultivar o Semillas
1	RELMO	INIA TIJETERA
2	ACA	303
3	BUCK	ARRIERO
4	BUCK	FAROL
5	BUCK	GUAPO
6	KLEIN	ESCORPION
7	KLEIN	ESTRELLA
8	KLEIN	MARTILLO
9	KLEIN	SAGITARIO
10	KLEIN	ESCUDO
11	THOMAS	EXP LUMB 21
12	THOMAS	EXP LUMB 22
13	THOMAS	EXP LUMB 23
14	THOMAS	EXP LUMB 24
15	MEGASEED	MEGATRIGO

Se realizaron 4 repeticiones (bloques) con la siguiente aleatorización del Número de Tratamientos:

Bloque I	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	1	1	1	1	1
Bloque II	8	1	9	2	0	3	1	4	2	5	3	6	4	7	5	1
Bloque III	1			1			1			1			1	1		
Bloque IV	1			1	2	7	2	3	8	3	4	9	4	5	0	5
	3	9	5	1	4	0	6	2	5	1	7	3	2	8	4	

Los tratamientos fueron sembrados en parcelas de 7 surcos por 5,50 m de largo y con 0,20 m entre surcos. Se cosecharon los 5 surcos centrales para dejar un tamaño de parcela final de 5,5 m². El peso final de la parcela expresado en gramos/parcela fue llevado a Kg/Ha.

TRATAMIENTO	GRAMOS					Kg/Ha				
	B I	B II	B III	B IV	TOT AL	B I	B II	B III	B IV	Kg/H a
RELMO INIA	29	32	31	30	1243	542	588	580	550	
TIJETERA	81	35	95	28	9	0	2	9	5	5654
ACA 303	43	39	38	38	1595	798	709	702	691	
	89	02	62	02	5	0	5	2	3	7252
BUCK ARRIERO	36	33	32	39	1420	672	603	584	721	
	97	21	16	66	0	2	8	7	1	6455
BUCK FAROL	45	42	41	39	1694	823	775	756	724	
	29	65	61	86	1	5	5	5	7	7700
BUCK GUAPO	38	39	38	38	1551	697	723	692	706	
	37	79	11	86	3	6	5	9	5	7051
KLEIN	37	28	33	33	1329	674	524	617	601	
ESCORPION	11	82	98	08	9	7	0	8	5	6045
KLEIN	39	44	37	39	1605	720	800	679	718	
ESTRELLA	63	04	37	54	8	5	7	5	9	7299
KLEIN	35	21	27	27	1117	644	389	494	504	
MARTILLO	47	40	18	74	9	9	1	2	4	5081
KLEIN	29	31	32	32	1260	542	572	587	590	
SAGITARIO	84	47	31	46	8	5	2	5	2	5731
KLEIN ESCUDO	48	44	41	39	1748	882	817	762	716	
	52	98	95	39	4	2	8	7	2	7947
EXP LUMB 21	41	45	39	41	1684	754	830	715	761	
	51	69	34	90	4	7	7	3	8	7656
EXP LUMB 22	38	41	37	37	1562	702	758	688	690	
	66	71	85	99	1	9	4	2	7	7100
EXP LUMB 23	42	36	37	40	1563	770	666	676	729	
	35	68	18	11	2	0	9	0	3	7105
EXP LUMB 24	16	16	16	14		307	302	300	265	
	92	63	50	60	6465	6	4	0	5	2939
MEGATRIGO	50	53	51	53	2083	126	132	129	132	1302
	40	15	80	00	5	00	88	50	50	2

El análisis de la varianza sobre el diseño empleado arrojó los siguientes resultados:

22

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
Kg/Ha I	60	0,96	0,95	7,07	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	253600564,9	17	14917680,3	61,99	<0,0001
MATERIAL	252024487,8	14	18001749,1	74,81	<0,0001
REP	1576077,14	3	525359,05	2,18	0,1042
Error	10106985,41	42	240642,51		
Total	263707550,3	59			
Test:LSD Fisher Alfa:=0,05					
DMS:=700,01910					
Error: 240642,5097 gl: 42					

23

MATERIAL	Medias	n	A	B	C	D	E	F	G	H
MEGATRIGO	13022,00	4								
KLEIN ESCUDO	7947,27	4		B						
BUCK FAROL	7700,45	4		B	C					
EXP LUMB 21	7656,36	4		B	C					
KLEIN ESTRELLA	7299,09	4		B	C					
ACA 303	7252,27	4		B	C					
EXP LUMB 23	7105,45	4			C	D				
EXP LUMB 22	7100,45	4			C	D				
BUCK GUAPO	7051,36	4			C	D				
BUCK ARRIERO	6454,55	4				D	E			
KLEIN ESCORPION	6045,00	4					E	F		
KLEIN SAGITARIO	5730,91	4						F	G	
RELMO INIA										
TIJETERA	5654,09	4						F	G	
KLEIN MARTILLO	5081,36	4							G	
EXP LUMB 24	2938,64	4								H
Letras distintas indican diferencias significativas($p \leq 0,05$)										

Conclusión: el ensayo realizado arrojó un Coeficiente de Variabilidad de 7.07, totalmente aceptable dentro de los parámetros usuales de ensayos de estas características. El rendimiento expresado en Kg/Ha del tratamiento inédito MEGATRIGO, superó HOJA DE SUSTITUCION (REGLA 26)

significativamente a todos los restantes tratamientos del ensayo. La contrastación de medias utilizando la prueba LSD de Fisher para un alfa de 0.05 fue de 700,01910 Kg/Ha, indicativa de la amplia superioridad en rendimiento expresado en Kg/Ha del tratamiento inédito MEGATRIGO sobre los restantes tratamientos del ensayo.

3) Calidad Industrial

La calidad de la harina de trigo es uno de los factores esenciales que tipifican a cada variedad para ser destinada a usos industriales específicos. De acuerdo a la información proporcionada por la Asociación Argentina PROTRIGO (AAPROTRIGO, 2004), la demanda internacional es cada vez más exigente: los trigos de determinada calidad y aptitud industrial son necesarios para la elaboración de algunos productos en los cuales repercute la calidad final y la mayor aceptación por parte del consumidor. La calidad pasó a ser un factor preponderante en toda transacción comercial.

En el comercio internacional los trigos de calidad tienen un precio diferencial por el costo de aplicar una adecuada tecnología y manejo de la producción, para lograr que llegue a la industria y a la exportación con la calidad que han sido generados. A su vez, los países que no segregan los trigos tienen que aceptar menores precios de mercado que generalmente están cerca de los valores del trigo forrajero. Dado que el precio de mercado esta en función de la calidad del grano, aquellos países que cuentan con sistemas de tipificación y segregación de sus trigos poseen ventajas comparativas frente a aquellos países que no lo hacen ya que, en estos casos, aquella ventaja comparativa se pierde al mezclarlos y se ofrece al mercado internacional como commodities.

La clasificación de la producción triguera por grupo de variedades y proteína es un factor que contribuye a mejorar la rentabilidad de todos los intervenientes de la cadena groalimentaria, desde los productores hasta la mejor satisfacción de la demanda de la industria y de la exportación.

Según la información de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos de la República Argentina (SAGPyA, 2004), los parámetros generales de calidad industrial de la harina de trigo son: porcentaje de proteína, porcentaje de gluten húmedo o seco, o la relación entre ambos; actividad enzimática medida como falling number, contenidos de cenizas y granulometría.

Por su parte, los parámetros de panificabilidad de la harina son: absorción de agua, desarrollo de la masa, estabilidad de la masa, caída de la masa, fuerza de la masa (W), resistencia (P), extensibilidad (L) de la masa, y la relación (P/L).

Sobre un relevamiento realizado por la SAGPyA entre profesionales del Instituto Nacional de Tecnología Industrial de la República Argentina (INTI), empresas privadas y la Professional Pasta Association, el siguiente cuadro muestra los parámetros de calidad industrial requeridos por las distintas industrias:

	% Proteína	W	P	L	P/L	% Cenizas	Glutén húmedo	Glutén inde.	Estabilidad	Fallin. Número	Color	impurezas
Pan francés en tablas	0	330/370	100/110	100/130	0,8/1	< 1,7%	28/30%					
Pan de molde		> 280			0,9/1,1		>30%	>0,6%	> 20 minutos	300/330 segundos		
Tapas de empanadas		> 240			0,9/1,0	< 0,55%	> 26%					Libre
Pastas frescas	> 12%	> 270			> 0,9	< 0,5%	> 33%		17	> 280		Libre
Galletitas	0	200/400	70/80	80/100	0,8	< 1,8%	27%					
Galletitas dulces	20	250+/-20	80/100	80/100	1		20/23%			425		
Grisines		120	50	100	0,5							
Pastas de candela	> 12/13%	180/350	110/120	50	1,2/2,5	< 0,55/0,75%	28/34			> 28		Libre

Según la Asociación Argentina PROTRIGO (AAPROTRIGO, 2004), la calidad panadera de los trigos y en definitiva la calidad del pan, dependen de los siguientes factores:

- La aptitud genética de la variedad que marca el potencial alcanzable.
- Las condiciones climáticas durante el ciclo del cultivo.
- Los recursos del suelo elegido para el cultivo.
- Los recursos tecnológicos aplicados para el cultivo.
- El manejo post-cosecha de la producción en el campo, el acopio y los elevadores terminales.
- El proceso industrial de transformación de harinas.
- El proceso industrial de transformación de pan

Para el caso de Australia, los trigos de dicho país se clasifican de acuerdo a lo siguiente:

- Prime hard: trigo blanco corrector de excelente calidad, con garantía de un nivel mínimo de proteína de 13% y 14%.
- Hard: trigo blanco que se segregó a un nivel mínimo de 11,5% de proteína.
- Premium white: es una mezcla de variedades seleccionadas, con garantía de un nivel mínimo de 10% de proteína
- Noodle: trigos adecuados para la producción de fideos salinos blancos, mezcla para la exportación a mercados japoneses y surcoreanos.
- Soft Wheat: mezcla de variedades de trigo blandas, segregado para garantizar un nivel máximo de proteína de 9,5%.
- Durum: variedades seleccionadas de trigo de color ámbar y vítreo con un nivel de proteína mínimo de 13%.

Para el caso de Canadá, los trigos de dicho país se clasifican de acuerdo a lo siguiente:

- Canadá Western Extra Strong: es un trigo duro rojo de primavera con gluten más fuerte con propósito de mezcla y panes especiales.
- Canadá Western Red Spring: es un trigo duro con calidad superior para panadería y pastelería. Se garantizan distintos niveles de proteína mínima: 12,5%, 13,5% y 14,5%.
- Canadá Western Red Winter: es un trigo duro que provee niveles de proteína de bajo a medio y gluten de fuerza mediana.
- Canadá Western Amber Durum: es un trigo duro con altos rendimientos de semolina para la producción de pasta.
- Canadá Prairie Spring Red: es un trigo semiduro con proteína promedio de entre 11 y 12%.
- Canadá Prairie Spring White: es un trigo blanco con altos rendimientos y niveles de proteína entre 10,5% y 11,5%.
- Canadá Western Soft White Spring: es un trigo blando con bajo contenido de proteína (entre 9% y 10%) para la producción de galletitas.
- Canadá Western Feed: es un trigo con alta calidad para forraje, alto contenido de proteína.

Para el caso de Estados Unidos, las diversas variedades de trigo de invierno y primavera se agrupan en ocho clases oficiales. Las clases de cada variedad se determinan por su dureza, el color de su grano y la época de siembra. Cada clase de trigo tiene sus propias

características uniformes en relación a la molienda, panadería u otros usos alimenticios, a saber:

- Hard Red Winter: es un importante trigo panadero que representa el 40% de la producción y exportación americana. Tiene un contenido moderadamente alto de proteína; generalmente el promedio está entre 11 y 12%.
- Hard Red Spring: es un trigo panadero con el mayor contenido de proteína, generalmente se mantiene entre 13 y 14%. Representa el 20% de las exportaciones americanas. Tiene tres subclases según la oscuridad, la dureza y el vítreo del grano.
- Hard White: es la clase más nueva que se produce. Es usado principalmente en el mercado doméstico americano para la elaboración de fideos.
- Soft White: es utilizado para panes livianos, galletitas y fideos. Es un trigo de baja proteína, generalmente con un nivel de 10%. Existen tres subclases.
- Soft Red Winter: es el trigo de mayor rendimiento, pero con relativamente baja proteína, generalmente de 10%.
- Durum: es el trigo más duro que provee semolina para la producción de pasta. De color ámbar. Existen tres subclases.
- Unclassed Wheat: toda otra variedad no incluida en los otros criterios, cualquier otro trigo cuyo color sea distinto al rojo o blanco.
- Mixed Wheat: cualquier mezcla de trigo que consiste en menos de 90 por ciento de una clase y más del 10 por ciento de otra.

En Argentina no existe un sistema de clasificación de trigos, sólo se puede mencionar distintos tipos de trigo que se pueden sembrar:

- trigo duro (trigo para pan),
- trigo blando (trigo para galletitas),
- trigo candeal (trigo para fideos) y
- trigo forrajero.

La calidad de una variedad está determinada por la cantidad y composición de las proteínas de reserva. Ante este evento es posible una diferenciación de variedades por Grupos de Calidad en base a sus características genéticas.

Las variedades del Grupo 1 son genéticamente correctoras de otras de inferior calidad. Al mezclarse con trigos débiles potencian la calidad dando un excelente volumen de pan. Las correspondientes al Grupo 2, son variedades de muy buena calidad panadera, que toleran largos tiempos de fermentación. Las variedades del Grupo 3 son muy rendidoras pero de calidad panadera deficitaria. A igual nivel de proteínas las variedades del Grupo 1 serán de mejor calidad que las del Grupo 2 y éstas a su vez que las del Grupo 3.

Para la conformación de los grupos mencionados se tuvieron en cuenta los siguientes parámetros: peso hectolítico, proteína en grano, rendimiento de harina, cenizas, % gluten húmedo, W del alveograma, estabilidad farinográfica y volumen de pan.

La siguiente es la tipificación de calidad de trigo duro propuesta para Argentina por la Asociación Argentina PROTRIGO y el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA):

CLASES DE TRIGO DURO

- TDA 1 SUPERIOR (Trigo Duro Argentino Uno). Formada por variedades del GRUPO 1 de Calidad con 3 bandas de proteína:
 - TDA 1 con banda de proteína entre 10,5% a 11,5%
 - TDA 1 con banda de proteína entre 11,6% a 12,5%
 - TDA 1 con proteína de más de 12,5%
- TDA 2 ESPECIAL (Trigo Duro Argentino Dos). Formada por variedades del GRUPO 1 y 2 con 3 bandas de proteínas:
 - TDA 2 con banda de proteína entre 10,0% a 11,0%
 - TDA 2 con banda de proteína entre 11,1% a 12,0%
 - TDA 2 con proteína de más de 12,0%
- TDA 3 Standard (Trigo Duro Argentino Tres). Formada por variedades del GRUPO 3 con 2 bandas de proteína:
 - TDA 3 con banda de proteína entre 10,0% a 11,0%
 - TDA 3 con proteína de más de 11,0%

En todos los casos las bandas de proteína sirven para asegurar una funcionalidad y no significarán bonificación alguna. Las bonificaciones deberán pactarse en los respectivos contratos de compra-venta. La clasificación por clases supone un destino de uso diferente para cada una de ellas (corrector, pan francés, pan de molde, galletitas, etc).

En lo que respecta a la especie Megatrigo, los análisis de calidad panadera realizados en Cátedra de Cereales de la Facultad de Agronomía de Azul (Universidad Nacional del Centro), revelaron en cuanto a la electroforesis SDS-PAGE, sobre granos individuales, el siguiente patrón proteico de gluteninas de alto peso molecular:

- GluA1: 2*
- GluB1: 7+9
- GluD1: 5+10

Este patrón de gluteninas se reconoce como correspondiente a variedades con muy buena calidad panadera.

Se encontró en el patrón de gliadinas, la introgresión con centeno, que le confiere al material buen comportamiento a algunas enfermedades.

En cuanto a las características de calidad industrial, se encontraron los siguientes resultados:

- Fuerza de glúten: La prueba de sedimentación se realizó de acuerdo a la técnica de Dick and Quick (1983). La prueba se realizó sobre 1 g de harina integral y seis repeticiones. La altura del sedimento fue 80 mm, comparable a variedades comerciales de trigo pan, de buena aptitud panadera.
- Alveograma: Esta prueba reológica, realizada sobre harina blanca del material en estudio, dio los siguientes valores:
 - W (Fuerza panadera): 387
 - P (Tenacidad): 107
 - L (Extensibilidad): 99
 - P/L: 1.08
- Peso de mil granos: 55-80 g.
- Contenido de Proteína: 16.8%. (A título comparativo, los contenidos de proteína de algunas variedades de trigo pan de Argentina son los siguientes: Pointa Gaucho, 12.0%; Thomas Aconcagua, 10,30%; Thomas 796; 12,80%; Klein Don Enrique, 12.0%, y Buck Halcon, 12,50%).

Conclusión: Estos parámetros corresponden a un trigo equilibrado, de muy buena aptitud panadera, que reúne los requisitos para ser considerado TDA 1 Superior, y que además se sitúa en la escala superior de calidad para los citados estándares de calidad de Australia, Canadá y los Estados Unidos.

4) Conteo mitótico

Los análisis citológicos se realizaron en el Wheat Precise Genetic Stocks del John Innes Centre, Norwich Reserach Park, Colney, Norwich, Reino Unido.

Los análisis revelaron que el conteo mitótico en metafase de células en división de la punta de raíz de Megatrigo fue de $2n = 42$ cromosomas.

Si bien todas las plantas analizadas tuvieron una constitución de $2n = 42$ cromosomas, en algunos casos se observaron segregaciones para uno de los satélites normalmente visibles del genoma de trigo que puede ser el 1B o el 6B. Algunas plantas mostraron 4 satélites, otros 3 satélites, otros 2 satélites y, en algunos casos, no fue posible determinar el número de satélites.

5) Caracterización molecular

La caracterización molecular del cultivar es una de las variadas aplicaciones de la genética molecular. La misma permite detectar diferencias en el ADN de plantas individuales.

La caracterización molecular puede ser una herramienta en sí misma, mediante la identificación de marcadores moleculares específicos para el cultivar bajo análisis. Los marcadores moleculares pueden ser utilizados para probar el nivel de diversidad genética entre diferentes cultivares. Otras veces, los estudios tratan de identificar a estos marcadores en relación a su ligamiento a genes específicos de valor dentro del cultivo.

Se han desarrollado una serie de marcadores moleculares para aplicarlos a estudios de caracterización molecular. Los marcadores RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphisms) fueron los primeros desarrollados y demostraron ser de gran utilidad para la caracterización molecular de diversos germoplasmas incluyendo el trigo. Con el posterior desarrollo de la tecnología de PCR (Polymerase Chain Reaction) emergieron una nueva serie de marcadores. Los primeros fueron los RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), los cuales ganaron rápida popularidad por su facilidad de uso y bajo costo frente al RFLP. Sin embargo esta técnica mostró serias debilidades relacionadas con la falta de reproducibilidad de los resultados entre distintos laboratorios. Los marcadores AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphisms) los cuales combinan la amplificación PCR de fragmentos específicos de ADN previamente digeridos por endonucleasas de restricción, demostraron su alta capacidad discriminatoria entre cultivares y reproducibilidad. Asimismo, los marcadores SSR (Simple Sequence Repeats) combinan el poder discriminatorio de los RFLP con la relativa facilidad de uso de los RAPDs (Rapela, 2000; Hoisington et al, 2002).

Los marcadores SSR han ganado una rápida aceptación en ámbitos académicos e industriales a causa de su naturaleza codominante, reproducibilidad, alto nivel de polimorfismos detectados, alto contenido de información, costo medio, baja dificultad técnica, uso alternativo de radioisótopos, y los mismos se han usado para varietal fingerprinting, genetic diversity studies, qualitative gene tagging, QTL mapping, y comparative mapping (Rapela, 2000; Manifesto et al, 2001; Hoisington et al, 2002). El análisis SSR consiste en una amplificación por PCR utilizando primers de 18 a 25 pares de base de longitud, los cuales son específicos de las regiones que flanquean a la presencia de 2 a 4 pares de bases repetidas en tandem. La variación en el número de pares de bases repetidas en tandem determina las diferencias en el largo de los fragmentos amplificados (Rapela, 2000; Manifesto et al, 2001).

Para esta presentación, los análisis moleculares de SSR se realizaron en el Genome Laboratory del John Innes Centre, Norwich Reserach Park, Colney, Norwich, UK.

De los 200 marcadores SSR disponibles se decidió una elección de 22 de ellos a fin de cubrir los 3 juegos de 7 cromosomas y ambos brazos de cada cromosoma y 3 marcadores de ubicación desconocida.

El ADN de coleóptilos de semillas de trigo fue extraído utilizando el Mini Kit de la planta Qiagen's DNeasy. El loci SSR utilizado en este análisis fue desarrollado por IPK Gatersleben (gwm y gdm), un consorcio international liderado por Agrogene SA, Moissy

Cramayal, France (wmc), the John Innes Centre (psp), P. Cregan, Q. Song and Associates at the USDA-ARS Beltsville Agriculture Research Station (barc).

Las reacciones de amplificación fueron llevadas a cabo en un termociclo Perkin Elmer Tetrad (Perkin-Elmer, Norwalk, CT) en una mezcla de reacción de 6.25ul. Cada reacción contenía 3.175ul de Qiagen HotStarTaq Mastermix, 0.2uM par de cebador y aproximadamente 20 ng of ADN genómico como templador. Los productos de amplificación fueron separados en un secuenciador ABI3700 y analizados utilizando el software Genescan and Genotyper (Applied Biosystems, Warrington, UK). Los fragmentos de SSR amplificados que difieren en tamaño por al menos 2bp fueron considerados como alelos diferentes.

En la siguiente Tabla se encuentran los resultados de los análisis realizados sobre muestras de los dos cultivares parentales (Thomas 796 y Thomas Aconcagua) y el Megatrigo, señalándose el tamaño del alelo amplificado en pares de bases, la designación del marcador SSR, su localización (en donde el número identifica al cromosoma, la primera letra sí pertenece al genoma A, B, o D, y las letras L, S, o C, a si está en el brazo largo, corto o en la región centromérica).

allele size (bp)	allele size (bp)	allele size (bp)	marker	location	line no.	line
169,00			barc168	?	1	Thomas 796
168,90			barc168	?	2	Thomas Aconcagua
169,03			barc168	?	3	Megawheat
128,59			gwm213	?	1	Thomas 796
128,73			gwm213	?	2	Thomas Aconcagua
128,58			gwm213	?	3	Megawheat
141,63			gwm388	?	1	Thomas 796
141,68			gwm388	?	2	Thomas Aconcagua
141,72			gwm388	?	3	Megawheat
274,16			barc083	1AL	1	Thomas 796
274,10			barc083	1AL	2	Thomas Aconcagua
274,17			barc083	1AL	3	Megawheat
159,88			psp3100	1BL	1	Thomas 796
159,82	173,96	181,85	psp3100	1BL	2	Thomas Aconcagua
161,67			psp3100	1BL	3	Megawheat
207,00			gdm111	1DL	1	Thomas 796
206,97	212,76		gdm111	1DL	2	Thomas Aconcagua
207,05			gdm111	1DL	3	Megawheat
126,24			gwm095	2AC	1	Thomas 796
124,28			gwm095	2AC	2	Thomas Aconcagua
142,45			gwm095	2AC	3	Megawheat
169,83			gwm388	2BL	1	Thomas 796
173,60	177,47		gwm388	2BL	2	Thomas Aconcagua
173,75			gwm388	2BL	3	Megawheat
184,03			barc168	2DS	1	Thomas 796
183,92			barc168	2DS	2	Thomas Aconcagua
181,09			barc168	2DS	3	Megawheat
119,04	133,25		wmc264	3AL	1	Thomas 796
139,46			wmc264	3AL	2	Thomas Aconcagua
137,36			wmc264	3AL	3	Megawheat
184,30			barc164	3BL	1	Thomas 796
184,28			barc164	3BL	2	Thomas Aconcagua
184,25			barc164	3BL	3	Megawheat
140,25			gdm072	3DS	1	Thomas 796
140,05			gdm072	3DS	2	Thomas Aconcagua
141,69			gdm072	3DS	3	Megawheat
199,52			barc184	4AL	1	Thomas 796
199,65	219,58		barc184	4AL	2	Thomas Aconcagua
199,57			barc184	4AL	3	Megawheat
171,16			barc163	4BL	1	Thomas 796
165,02			barc163	4BL	2	Thomas Aconcagua
164,84	170,83		barc163	4BL	3	Megawheat
167,97			wmc457	4D	1	Thomas 796
167,93			wmc457	4D	2	Thomas Aconcagua
168,18			wmc457	4D	3	Megawheat
273,65			barc141	5AS	1	Thomas 796
275,79			barc141	5AS	2	Thomas Aconcagua
273,62			barc141	5AS	3	Megawheat
175,40			gwm213	5BC	1	Thomas 796
175,35			gwm213	5BC	2	Thomas Aconcagua
175,40			gwm213	5BC	3	Megawheat
186,20			barc110	5DL	1	Thomas 796
201,02			barc110	5DL	2	Thomas Aconcagua
186,10			barc110	5DL	3	Megawheat
246,23			dupw167	6AL	1	Thomas 796
246,34			dupw167	6AL	2	Thomas Aconcagua
246,23			dupw167	6AL	3	Megawheat
195,80			barc134	6BL	1	Thomas 796
197,62	203,58		barc134	6BL	2	Thomas Aconcagua
191,90	197,74		barc134	6BL	3	Megawheat
166,22			gwm469	6DS	1	Thomas 796
168,13			gwm469	6DS	2	Thomas Aconcagua
166,21			gwm469	6DS	3	Megawheat
126,19			gwm130	7AS	1	Thomas 796
126,12			gwm130	7AS	2	Thomas Aconcagua
126,21			gwm130	7AS	3	Megawheat
185,25			barc072	7BS	1	Thomas 796
185,19			barc072	7BS	2	Thomas Aconcagua
185,08			barc072	7BS	3	Megawheat
NULL			gwm130	7DS	1	Thomas 796
NULL			gwm130	7DS	2	Thomas Aconcagua
114,06			gwm130	7DS	3	Megawheat
220,78			barc076	7DL	1	Thomas 796
208,84	220,83		barc076	7DL	2	Thomas Aconcagua
221,00			barc076	7DL	3	Megawheat

El análisis indica la presencia en el Megatrizo de 6 alelos SSR particulares que no se encuentran en ninguno de ambos progenitores y podrían ser indicativos de la acción a nivel de ADN causada por la técnica empleada de variabilidad genética.

Los alelos SSR para los cuales Megatrizo se diferencia de ambos progenitores fueron: psp3100 (1BL), gwm095 (2AC), wmo264 (3AL), gdm072 (3DS), barc134 (6BL) y gwm130 (7DS).

References

AAPROTRIGO, 2004. Calidad Panadera: ¿de qué depende la calidad del pan? WEB site: <http://www.aaprotrigo.org/calidad.htm>

Allan, 1987. "Wheat", Chapter 18, Principles of Crop Development, vol. 2, Fehr editor.

Allard, 1960. Principles of *Plant Breeding*.

American Optometric Association, 2004 - www.aoanet.org . Acceso al sitio WEB, octubre 2004.

Curtis, B.C. 2002. In: B.C. Curtis, S. Rajaram and H. Gómez Macpherson (eds.), 2002. Bread wheat: improvement and production. FAO Plant Production and Protection Series.

Dewey, D.R. 1984. The genomic system of classification as a guide to intergeneric hybridisation with the perennial Triticeae. In J.P. Gustafson, ed. Gene manipulation in plant improvement, p. 209-279. New York, NY, USA, Plenum Press

Dvorak, J. and H.B. Zhang. 1990. variation in repeated nucleotide sequences sheds light on the phylogeny of the wheat B and G genomes. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87: 9640-9644.

Environmental Protection Agency, 2004 - www.epa.gov/ozone Acceso al sitio WEB, octubre 2004.

Gardner, J.S., Hess, W.M. & Trione, E.J. 1985. Development of the young wheat spike: a SEM study of Chinese spring wheat. Am. J. Bot., 72: 548-559.

Heyne (editor), 1987. Wheat and Wheat Improvement.

Hoisington, D., N. Bohorova, S. Fennell, M. Khairallah, A. Pellegrineschi, J.M. Ribaut, 2002. The application of biotechnology to wheat improvement. In: B.C. Curtis, S. Rajaram and H. Gómez Macpherson (eds.), 2002. Bread wheat: improvement and production. FAO Plant Production and Protection Series.

Hsu, J.C., 1996. *Multiple Comparisons: Theory and Methods*. London: Chapman & Hall.

Hsu, J.C.; Nelson, B., 1998. *Multiple Comparisons in the General Linear Model*. Journal of Computational and Graphical Statistics, 7(1): 23-41.

InfoStat, Software Estadístico, Manual del Usuario, Versión 2004

Jaaska, V. 1978. NADP-dependent aromatic alcohol dehydrogenases in polyploidy wheats and their diploid relatives – origin and phylogeny of polyploid wheats. *Theor. Appl. Genet.* 53: 209-217.

Kielbassa, C., L. Roza and B. Epe. 1997. Wavelength dependence of oxidative DNA damage induced by UV and visible light. *Carcinogenesis*, 18, 811-816.

Kihara, H. 1944. Discovery of the DD-analyser, one of the ancestors of vulgare wheats. *Agric. Hort.* 19: 13-14.

Kimber, G. and M. Feldman. 1987. Wild wheat: An introduction. P. 99-103. Special Report 353, College of Agric., Univ. of Missouri, Columbia.

Kubitschek, H.E. 1967. Mutagenesis by near-visible light. *Science*, 155(769):1545-6.

Manifesto, M.M., A. R. Schlatter, H. E. Hopp, E. Y. Suárez, and J. Dubcovsky. 2001. Quantitative Evaluation of Genetic Diversity in Wheat Germplasm Using Molecular Markers, *Crop Sci.* 41:682-690.

McFadden, E.S. and E.R. Sears. 1946. The origin of *Triticum spelta* and its free-threshing hexaploid relatives. *J. Hered.* 37: 81-89.

McGinty, L.D. and Fowler, R.G. 1982. Visible light mutagenesis in *Escherichia coli*. *Mutat. Res.* 95(2-3):171-81.

Montelone, B.A., 1998. Mutation, mutagens, and DNA repair. Division of Biology, Kansas State University; originally written as a supplement to BIOL400, Human Genetics

Mori, N., T. Terachi, and T. Tsunewaki. 1988. Organellar genome differentiation in wild tetraploid wheats, *Triticum dicoccoides* and *T. araraticum*. p. 109-114. In: T.E. Miller and R.D.M. Koebner (ed.) *Proc. 7th Int. Wheat Genet. Symp.*, Cambridge, England, U.K.

Morrison, L.A.; O. Riera-Lizarazu, L. Crémieux, and C. A. Mallory-Smith. 2002. Jointed Goatgrass (*Aegilops cylindrica* Host) x Wheat (*Triticum aestivum* L.) Hybrids: Hybridization Dynamics in Oregon Wheat Fields, *Crop Sci.* 2002 42: 1863-1872.

Mujeeb-Kazi, A. and S. Rajaram. 2002. Transferring alien genes from related species and genera for wheat improvement. In: B.C. Curtis, S. Rajaram and H. Gómez Macpherson (eds.), 2002. *Bread wheat: improvement and production*. FAO Plant Production and Protection Series.

Nelder, J.A., 1994. *The Statistics of Linear Models: Back to Basics*. Statistics and Computing, 4: 243-256.

Little, T.M.; Jackson Hill, F. 1978. *Agricultural Experimentation*. New York, John Wiley & Sons, Inc., New York.

Rapela, M.A. 2000. *Derechos de propiedad intelectual en vegetales superiores*. Editorial Ciudad Argentina, 466 páginas.

Reynolds, M.P., 2002. Physiological approaches to wheat breeding. In: B.C. Curtis, S. Rajaram and H. Gómez Macpherson (eds.), 2002. Bread wheat: improvement and production. FAO Plant Production and Protection Series.

SAGPyA, 2004. Análisis de la cadena de harina de trigo. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos (SAGPyA), República Argentina, WEB site: http://www.sagpya.mecon.gov.ar/0-3/farina/har_trigo/har_02.htm

Searle, S.R. 1971. *Linear Models*. New York, John Wiley & Sons, Inc., New York

Searle, S.R. 1987. *Linear Models for Unbalanced Data*. New York, John Wiley & Sons, Inc., New York.

Sears, E.R. 1953. Nullisomic Analysis in Common Wheat. Am. Nat. 87:245-252.

Sears, E.R. 1954. The aneuploids of common wheat. Mo. Agric. Exp. Sta. Res. Bull., 572: 1-58.

Sharp, P. 2004. Targeted mutagenesis in Wheat. In: Quality Wheat: Newsletter of the CRC for Value Added Wheat. May 17, 2004.

Simmonds, 1979. *Principles of Crop Improvement*.

Sinha, R.P., P. Richter, J. Faddoul, M. Braun and D.P. Häder. 2002. Effects of UV and visible light on cyanobacteria at the cellular level. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 1(8), 553 – 559.

Snedecor, G.W. 1956. *Métodos Estadísticos Aplicados a la Investigación Agrícola y Biológica*. Compañía Editorial Continental, S.A., México.

Snedecor, G.W.; Cochran, W.G. 1967. *Statistical Methods*. Ames, IA: Iowa State University Press.

Voskanyan, K. Sh. 1999. UV AND VISIBLE LIGHT – INDUCED MUTATIONS IN *ESCHERICHIA COLI*. Second Internet Conference on Photochemistry and Photobiology, July 16- Sept 7, 1999. Internet Photochemistry and Photobiology, An International Forum for Virtual Conferences

Voskanyan K.Sh. 1990. 633 nm light induces mutations. *Studia Biophysica*, v.139, 1 (1990) 43-46.

Waines, J.G. and D. Barnhart. 1992. Biosystematic research in *Aegilops* and *Triticum*. *Hereditas*, 116: 207-212.

Wang. G.Z., N.T. Miyashita, and K. Tsunewaki. 1997. Plasmon analysis of *Triticum* (wheat) and *Aegilops*: PCR-single-stranded conformational polymorphism (PCR-SSCP) analysis of organellar DNAs. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* 94: 14570-14577.

Wheat Genetics Resource Center, 2004. *Aegilops* classification systems: Classification of *Aegilops* and *Amblyopyrum* according to the various proposed systems. WEB site: <http://www.ksu.edu/wgrc/Taxonomy/taxaeg.html>

Xiang Yang, A. 1990. Study of the mutagenic effect of such physical factors as laser on E.coli and of the auxotrophic analysis. Proc. Inc. Conf. On Lasers in the Life Sciences, June 20-23 (1990) China.

REIVINDICACIONES

1. Un método para obtener una planta de trigo con propiedades de rendimiento mejoradas CARACTERIZADO porque consiste en generar variabilidad genética y estando dicho método comprendido de las siguientes etapas:
 - a. la construcción de una planta de trigo F1 por medio del cruzamiento de dos padres genéticamente distantes y de cualidades industriales opuestas;
 - b. la aplicación permanente a lo largo de todo el desarrollo de la inflorescencia de dicha planta de una alta concentración de luz solar sin filtrado de espectro por medio de 6 superficies espejadas de 1,00 metros de largo por 0,50 metros de alto cada una; estando dichas superficies espejadas montadas sobre soportes de manera tal que los espejos apunten por su centro hacia una varilla ubicada en forma equidistante en medio de la parcela con las plantas;
 - c. la germinación de las semillas resultantes y el análisis de la descendencia para la búsqueda de variantes estabilizadas de distinto número cromosómico.
2. Un método para obtener una planta de trigo de acuerdo con la reivindicación 1, CARACTERIZADO porque se obtiene una variante de trigo estabilizada que presenta raíz en corona, alta capacidad de producción de vástagos fértiles, hojas largas y anchas en algunos casos finamente aserradas, hojas con nervadura central, capacidad de rebrote, hábito perenne, alto nivel de productividad en grano, alto nivel de proteína y cualidades industriales similares a los trigos duros de mejor calidad, que califican para ser designados como un nuevo tipo de trigo de nombre común Megatrigo.
3. Un método para obtener una planta de trigo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2, CARACTERIZADO porque el nivel de productividad es supera un 60% la producción de los trigos convencionales.
4. Un método para obtener una planta de trigo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, CARACTERIZADO porque se obtienen semillas con un peso superior a los 55 g, preferentemente superior a 70 g.
5. Un método para obtener una planta de trigo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, CARACTERIZADO porque el paso de análisis de la descendencia consiste en la selección asistida de marcadores genéticos y comprende evaluar el ADN de las plantas; mapear con uno o más de los siguientes marcadores

genéticos SSR psp3100; gwm095; wmo264; gdm072; barc134; gwm130 y en donde dichos marcadores se ubican en las posiciones según el siguiente detalle:

marcador	locación			Tamaño alelo (bp)
	Cromosoma	genoma	brazo	
psp3100	1	B	largo	181,67
gwm095	2	A	centrómero	112,45
wmc264	3	A	largo	137,38
gdm072	3	D	corto	117,59
barc134	6	B	largo	191,90
gwm130	7	D	corto	114,06

6. Un método para obtener una planta de trigo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores CARACTERIZADO porque se obtiene una planta de trigo designada Megatrigo .
7. Una planta o una parte planta de trigo obtenida según el método de la reivindicación 1, CARACTERIZADA por tener presencia de raíz en corona, alta capacidad de producción de vástagos fértiles, hojas largas y anchas en algunos casos finamente aserradas, hojas con nervadura central, capacidad de rebrote, hábito perenne, alto nivel de productividad en grano, alto nivel de proteína y cualidades industriales similares a los trigos duros de mejor calidad, que califican para ser designados como un nuevo tipo de trigo de nombre común Megatrigo.
8. Una planta o parte de planta de trigo obtenida según el método de cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2, CARACTERIZADA porque en el análisis genético mediante selección asistida de marcadores genéticos, los siguientes marcadores genéticos SSR psp3100; gwm095; wmo264; gdm072; barc134; gwm130 se ubican en las posiciones detalladas en el siguiente cuadro:

marcador	locación			Tamaño alelo (bp)
	Cromosoma	genoma	brazo	
psp3100	1	B	largo	181,67
gwm095	2	A	centrómero	112,45
wmc264	3	A	largo	137,38
gdm072	3	D	corto	117,59
barc134	6	B	largo	191,90
gwm130	7	D	corto	114,06

9. Una planta de trigo obtenida según el método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, CARACTERIZADA porque dicha planta pertenece a la especie seleccionada entre *Triticum aestivum*, *T. turgidum*, *T. timopheevii*, *T. monococcum*, *T. zhukovskyi* y *T. urartu* e híbridos de los mismos, preferentemente *Triticum aestivum*.
10. Una semilla o parte de semilla CARACTERIZADA porque se obtiene de una planta de trigo según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9.
11. Polen CARACTERIZADO porque se obtiene de una planta de trigo según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9.
12. Un óvulo de planta CARACTERIZADO porque se obtiene a partir de una planta de trigo según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9.
13. Una planta de trigo CARACTERIZADA porque se obtiene de una semilla o de las partes de plantas de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 10 a 12.
14. Un cultivo de tejidos de células regenerables CARACTERIZADO porque es producido a partir de la planta de trigo según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9.
15. Un cultivo de protoplastos de células regenerables CARACTERIZADO porque es producido a partir del cultivo de tejidos de la reivindicación 14.
16. Una planta F1 de trigo CARACTERIZADA porque se obtienen del cruzamiento de plantas según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9 con cualquier planta de la tribu *Triticeae*.
17. Una planta CARACTERIZADO porque es la descendencia de las plantas F1 de la reivindicación 16.
18. Una planta híbrida CARACTERIZADA porque se obtiene por cualquier procedimiento a partir de las plantas según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9.
19. Una planta resistente a herbicidas CARACTERIZADA porque se obtiene por cualquier procedimiento a partir de las plantas según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9.
20. Una planta resistente a insectos CARACTERIZADA porque se obtiene por cualquier procedimiento a partir de las plantas según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9.

21. Una planta resistente a enfermedades CARACTERIZADA porque se obtiene por cualquier procedimiento a partir de las plantas según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9.
22. Una planta con contenido reducido en fitato CARACTERIZADA porque se obtiene por cualquier procedimiento a partir de las plantas según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9.
23. Una planta con metabolismo de ácidos grasos modificado CARACTERIZADA porque se obtiene por cualquier procedimiento a partir de las plantas según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9.
24. Una planta con almidón waxy o almidón con incremento de amilosa CARACTERIZADA porque se obtiene por cualquier procedimiento a partir de las plantas según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9.
25. Un método para generar variabilidad genética en trigo, preferentemente *Triticum aestivum*, CARACTERIZADO PORQUE comprende los pasos de:
 - a. La construcción de una planta de trigo F1 por medio del cruzamiento de dos padres genéticamente distantes y de cualidades industriales opuestas;
 - b. La aplicación permanente a lo largo de todo el desarrollo de la inflorescencia de dicha planta de una alta concentración de luz solar sin filtrado de espectro;
 - c. La germinación de las semillas resultantes y el análisis de la descendencia para la búsqueda de variantes estabilizadas de distinto número cromosómico.

1/21

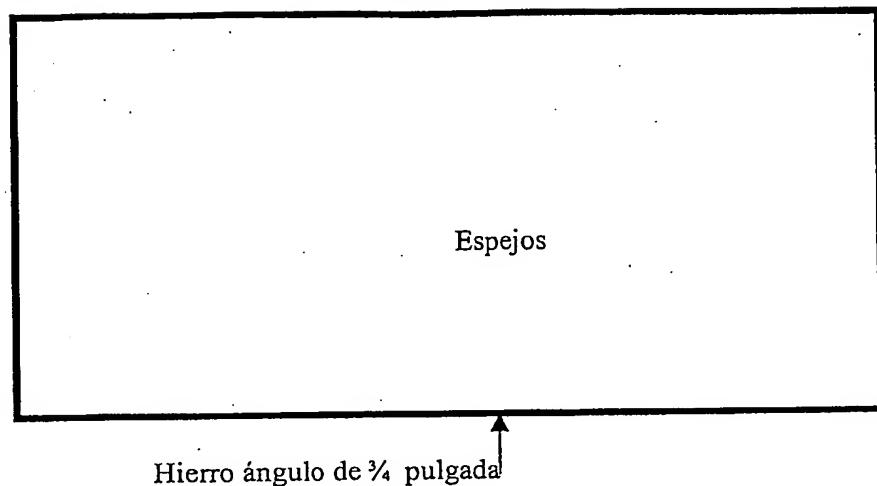
Figura No 1.

ESPEJOS

Vista de Frente:

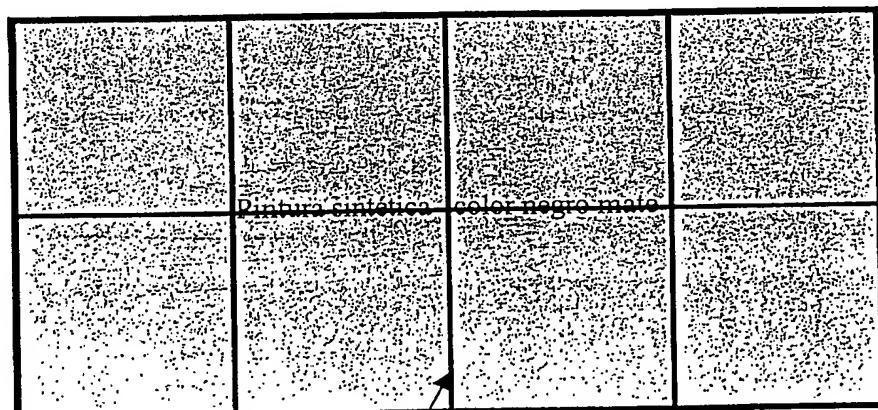
← Ancho 100 cm →

Alto 50 cm



Vista de Atrás:

Pintura sintética color negro mate

Hierro planchuela de $\frac{1}{2}$ pulgada

2/21

Figura No 2.

Vista Lateral:

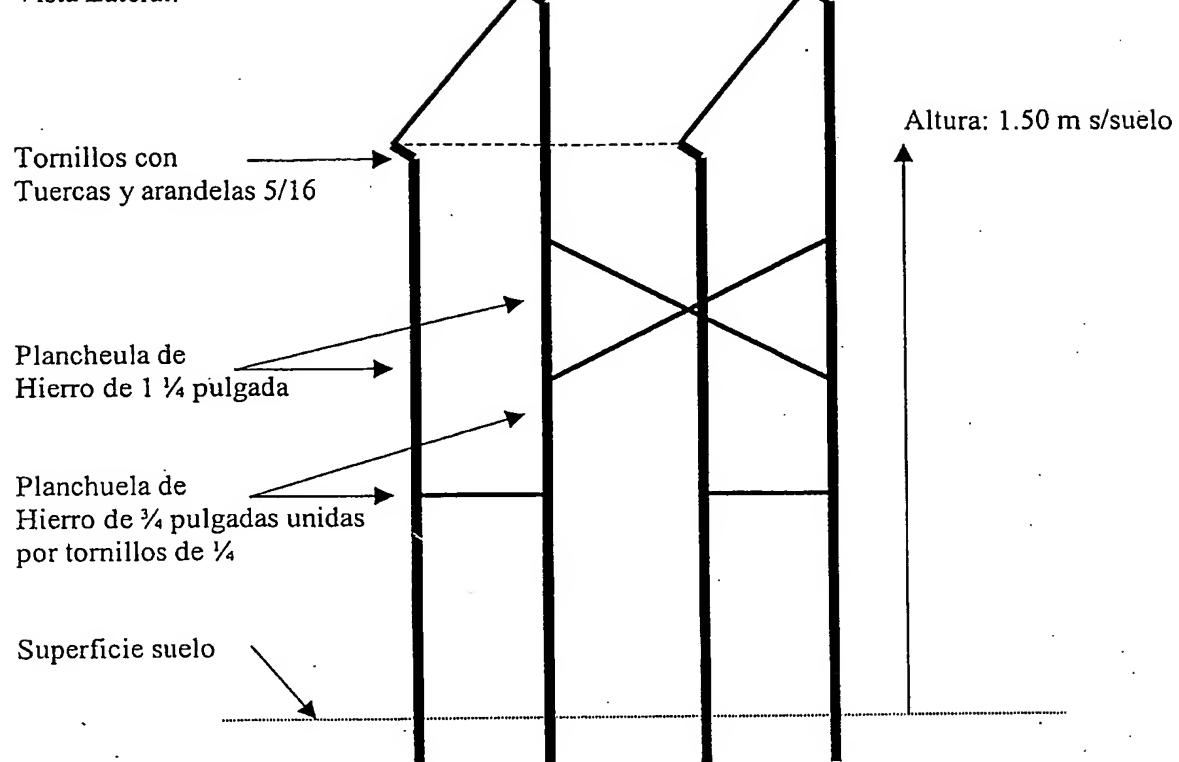
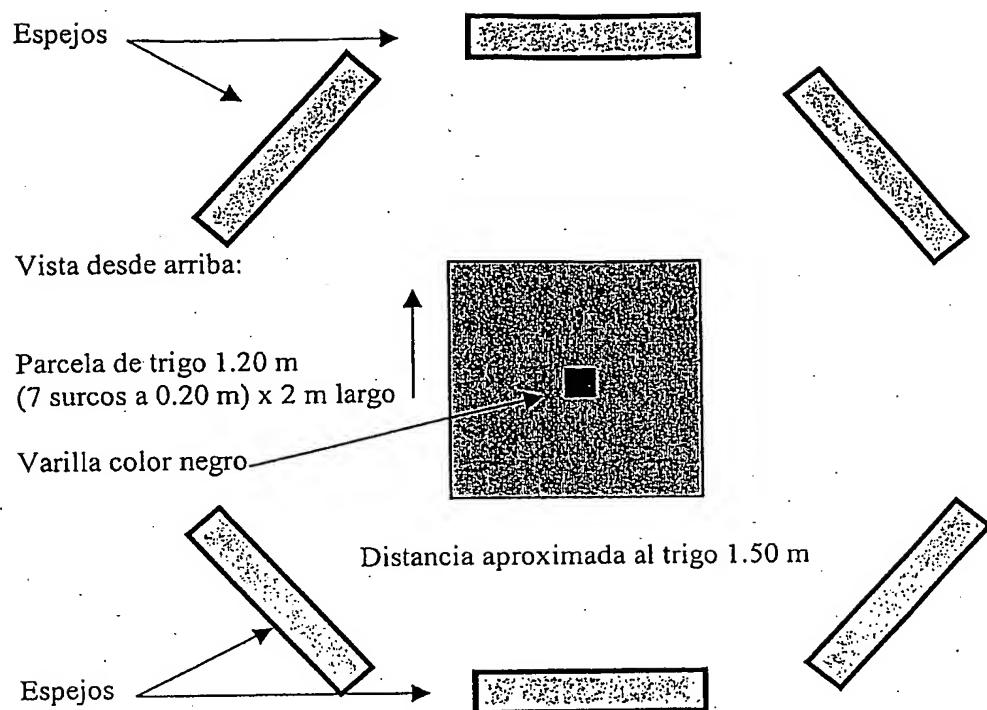


Figura No 3.



4/21

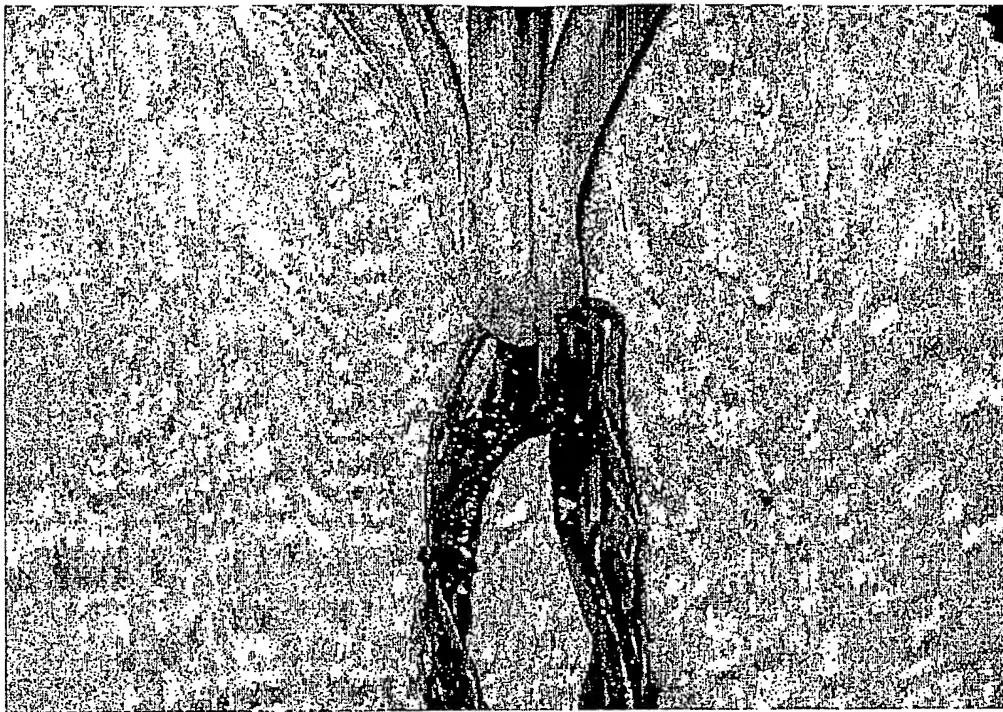


FIG. 4

5/21



FIG. 5

6/21



FIG. 6

7/21



FIG. 7

8/21

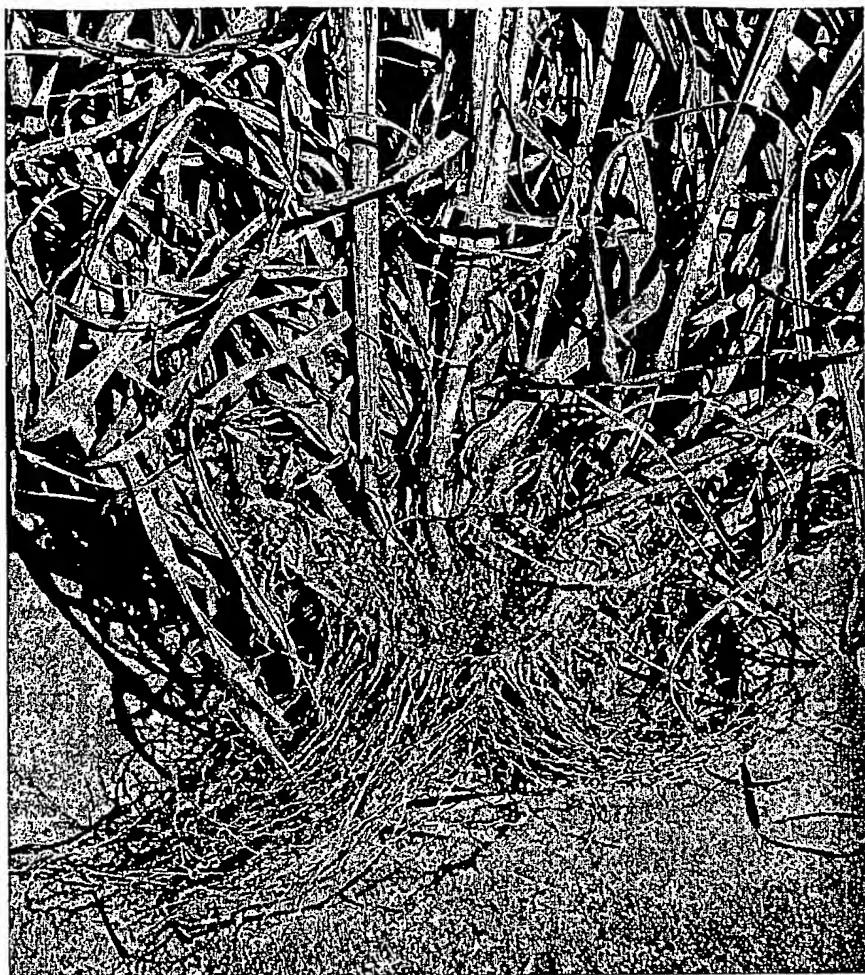


FIG. 8

9/21

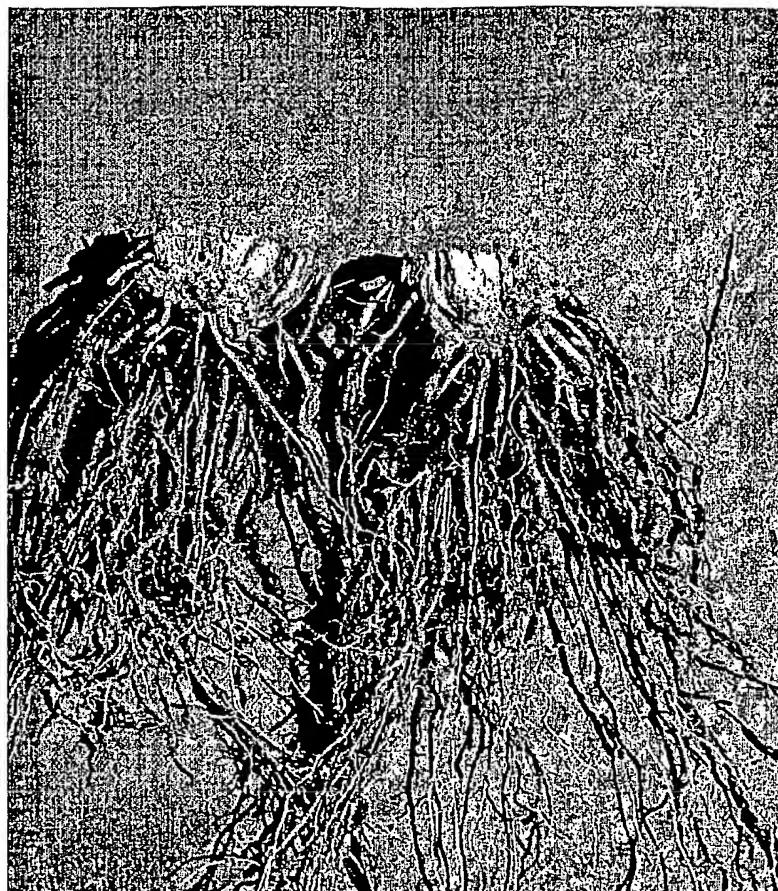


FIG. 9

10/21

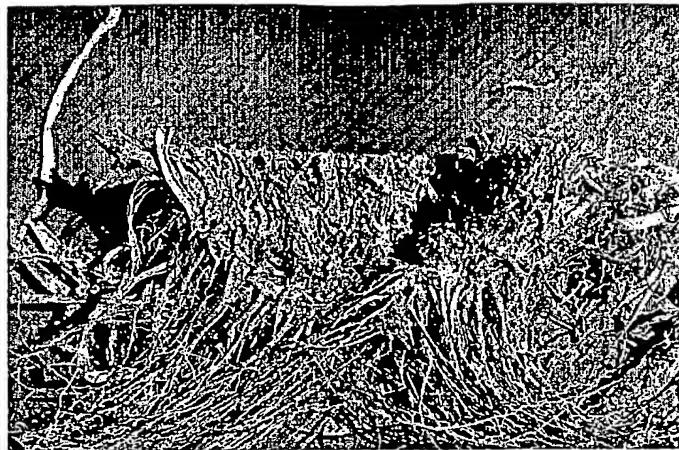


FIG. 10

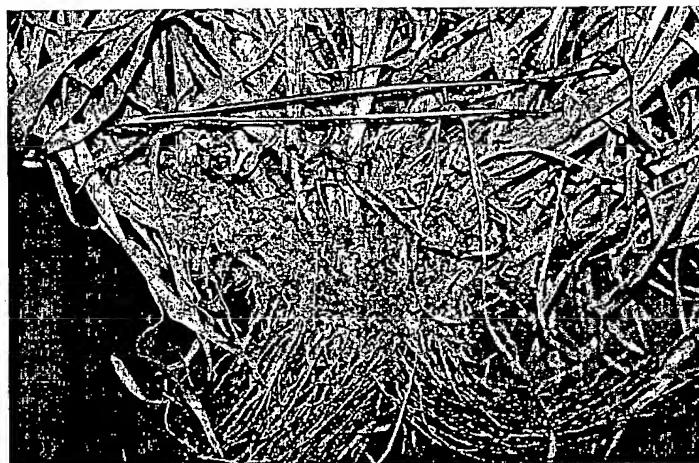


FIG. 11

11/21



FIG. 12

12/21

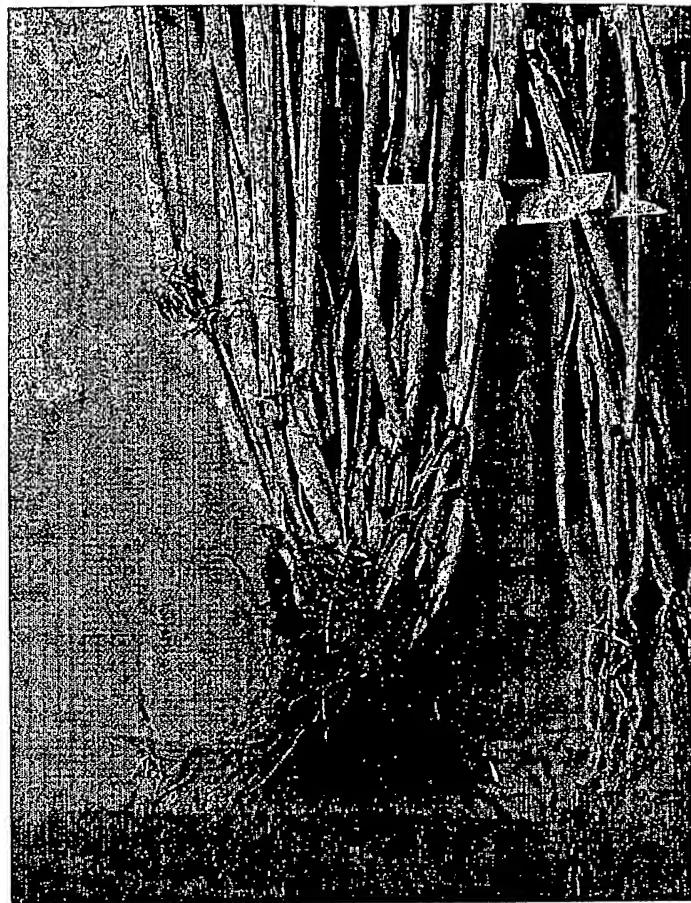


FIG. 13

13/21



FIG. 14

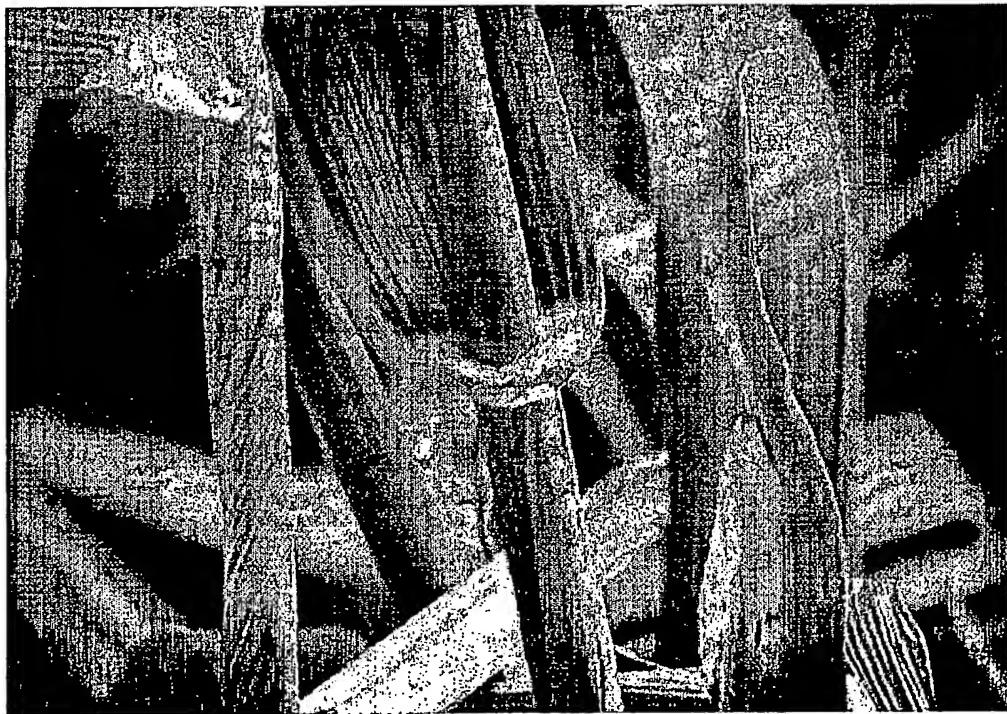


Fig. 15

14/21



FIG. 16

15/21

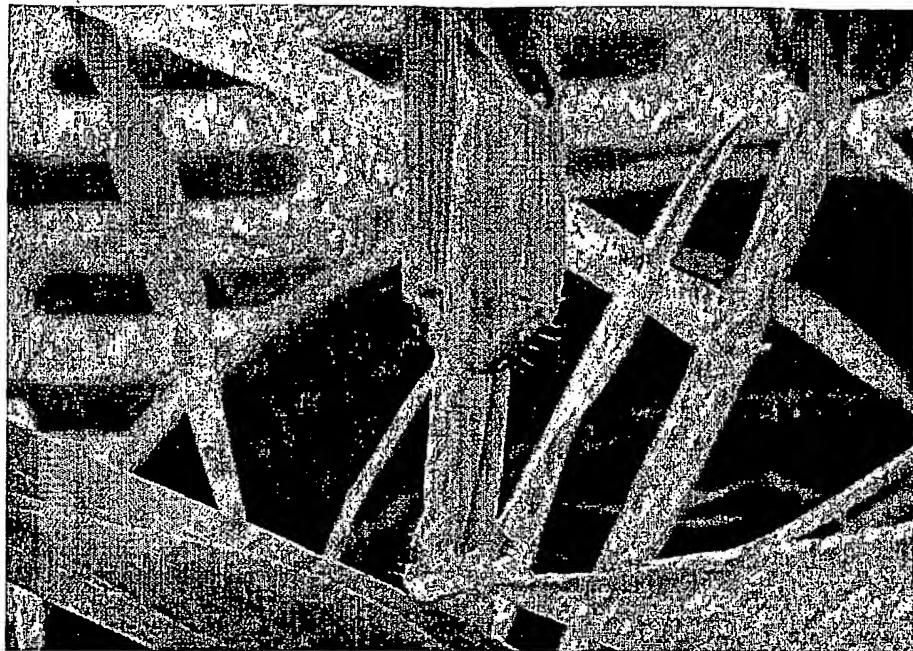


FIG. 17



FIG. 18

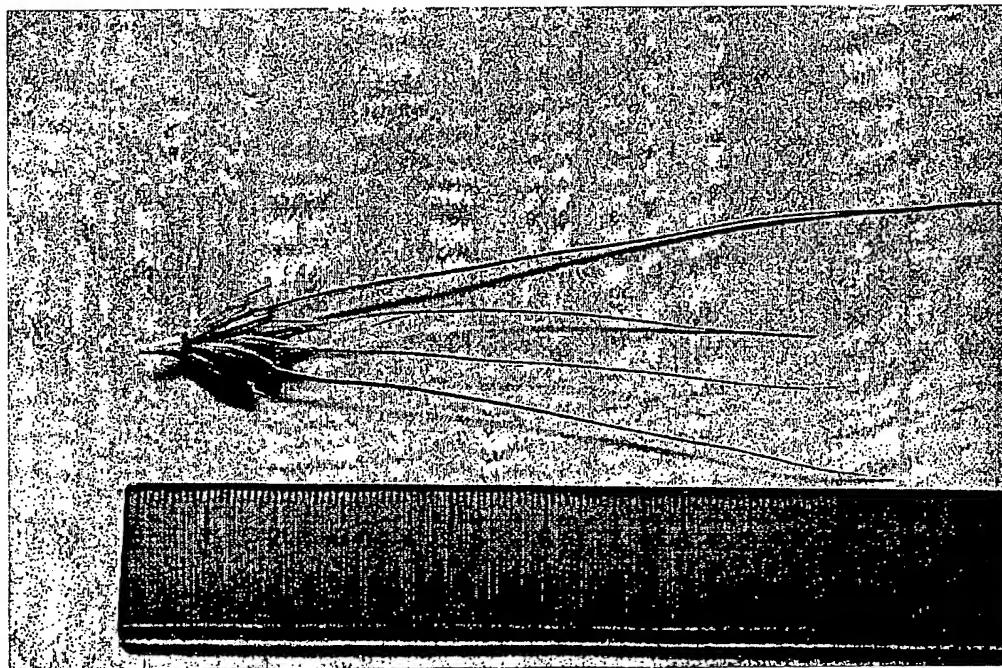


FIG. 19

17/21

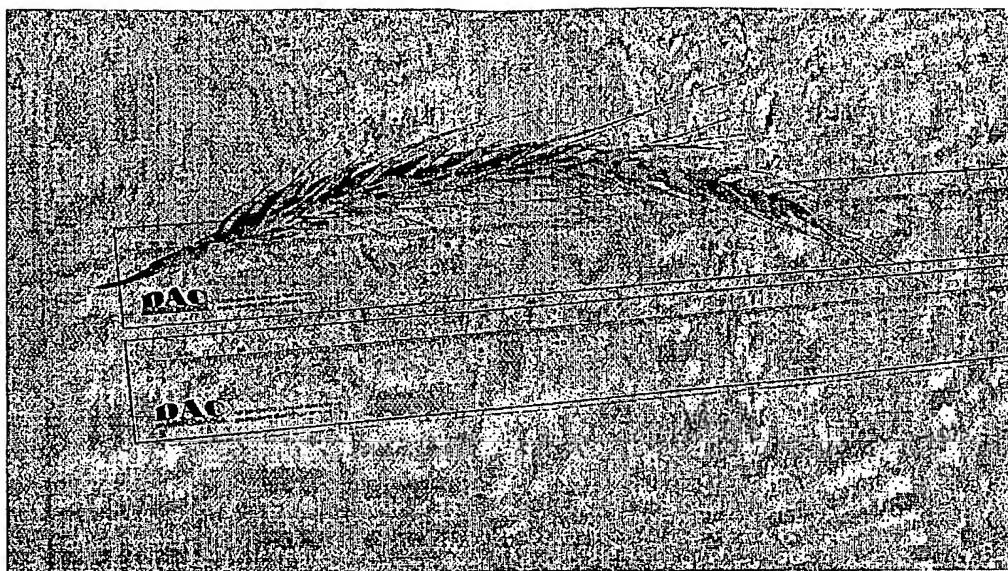


FIG. 20

18/21



FIG. 21

19/21

PORTES VEGETATIVOS AL COMIENZO DE ENCAÑAZON



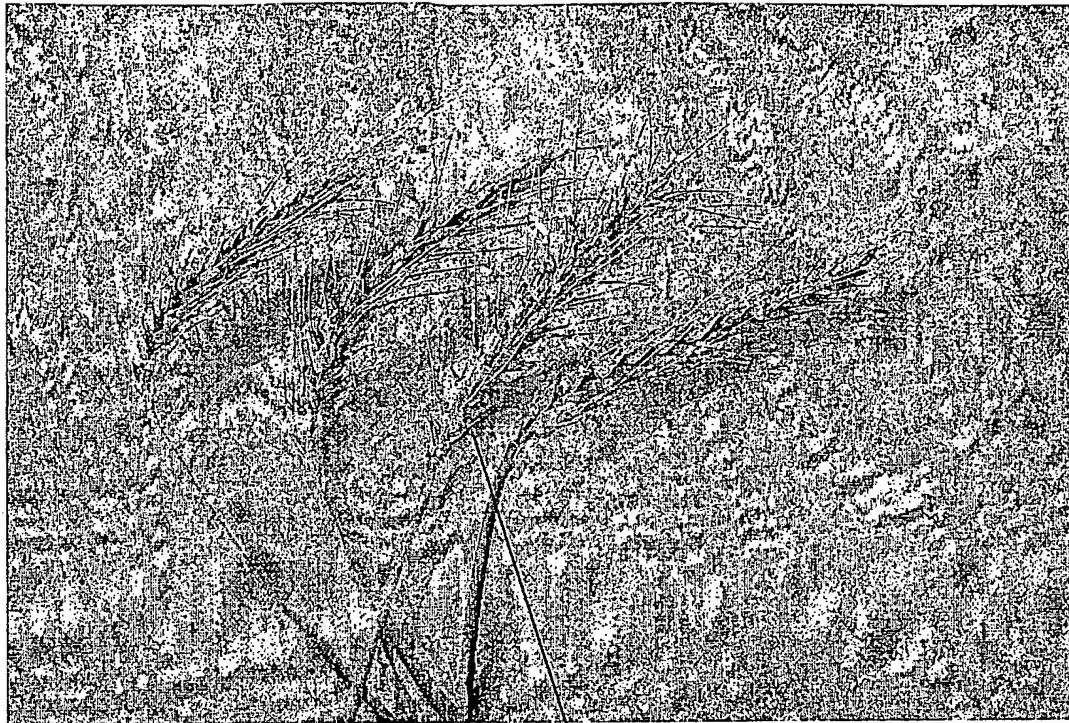
**Semirastrero
(FIGURA 23)**

**Erecto
(FIGURA 25)**

**Rastrero
(FIGURA 22)**

**Semierecto
(FIGURA 24)**

20/21



GLUMAS



FIG. 26

